

Журнал основан в 1918 г.

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ
ТАВРИЧЕСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА им. В. И. ВЕРНАДСКОГО

Научный журнал

Серия “Биология, химия”

Том 27 (66). № 2

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
Симферополь, 2014

Список научных специализированных изданий Украины:
Постановление Президиума ВАК Украины № 1-05/2 от 10 марта 2010 года**Редакционный совет журнала****«Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского»:**

1. Багров Н.В. – д.г.н., проф., академик НАН Украины, (главный редактор)
2. Шульгин В.Ф. – д.хим.н., проф. (зам. главного редактора)
3. Дзедолик И.В. – д.ф.-м.н., доц. (отв. секретарь)

Члены Совета (редакторы серий и разделов серий):

- | | |
|--|--|
| 1. Бержанский В.Н. – д.ф.-м.н., проф. | 7. Копачевский Н.Д. – д.ф.-м.н., проф. |
| 2. Богданович Г.Ю. – д.филол.н., проф. | 8. Непомнящий А.А. – д.и.н., проф. |
| 3. Вахрушев Б.А. – д.г.н., проф. | 9. Подсолонко В. А. – д.э.н., проф. |
| 4. Гришковец В.И. – д.х.н., проф. | 10. Рогань В.Г. – д.ю.н., проф. |
| 5. Казарин В.П. – д.филол.н., проф. | 11. Темурьянц Н.А. – д.б.н., проф. |
| 6. Климчук С.В. – д.э.н., доц. | 12. Шоркин А.Д. – д.филос.н., проф. |

Редакционная коллегия серии «Биология, химия»:**Раздел «Биология»:**

Гольдин П.Е. – к.б.н., доц.
Ивашов А.В. – д.б.н., проф.
Коношенко С.В. – д.б.н., проф.
Коренюк И. И. – д.б.н., проф.
Котов С.Ф. – к.б.н., доц.
Лебедева Н.Н. – д.б.н., проф.
Макарчук Н.Е. – д.б.н., проф.
Мартынюк В.С. – д.б.н., проф.
Павленко В.Б. – д.б.н., проф.
Темурьянц Н.А. – д.б.н., проф., (редактор
серии, редактор раздела «Биология»),
(timur328@gmail.com)
Чуян Е.Н. – д.б.н., проф.

Раздел «Химия»:

Гришковец В.И. – д.х.н., проф., (редактор
раздела «Химия»), (physchem@crimea.edu)
Еременко И.Л. – академик РАН, с.н.с.
Земляков А. Е. – д.х.н., проф.
Новоторцев В.М. – академик РАН
Першина Е.Д. – к.х.н., доц.
Федоренко А. М. – д.х.н., проф.
Чирва В. Я. – д.х.н., проф.
Шульгин В.Ф. – д.х.н., проф.

**Печатается по решению Ученого Совета Таврического национального университета
им. В.И. Вернадского, протокол № 4 от 19.05.2014 г.**

Подписано в печать 22.05.2014 формат 70x100/16
17,75 усл. п. л. 14,95 уч.-изд. л. Тираж 500. Заказ № 17/а.
Отпечатано в информационно-издательском отделе ТНУ,
пр. Вернадского 4, г. Симферополь, 95007

«Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського»

Науковий журнал. Том 27 (66), №2, Біологія, хімія.
Сімферополь, Таврійський національний університет ім. В.І.Вернадського, 2014
Журнал заснований у 1918 р.

Адреса редакції: пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007
Надруковано у інформаційно-видавничому відділі Таврійського національного університету
ім. В.І. Вернадського, пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007
<http://sn-biolchem.crimea.edu/>

© Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, 2014 г.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского

Серия «Биология, химия». Том 27 (66). 2014. № 2. С. 3-10.

УДК [612.66+616-092] : 577.15

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОДУЛЯЦИИ ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ПОСТМИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ БЕДРЕННОЙ МЫШЦЫ КРЫС

Амжад Хамдаллах¹, Давыдов В.В.^{1,2}

¹*Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харьков, Украина*

²*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков, Украина*

E-mail: vaddavydov@mail.ru

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение глутатионтрансферазной активности в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы крыс 1,5-, 12- и 24-месячного возраста, а также особенностей ее модуляции под влиянием факторов, возникающих в клетках в условиях оксидативного стресса. Исследования показали, что активность ГТ с увеличением возраста животных повышается. Одновременно меняется чувствительность фермента к ингибирующему эффекту ацидоза и понижению концентрации восстановленного глутатиона. Для 1,5-месячного возраста (пубертат) характерна наименьшая базальная активность глутатионтрансферазы и ее наибольшая чувствительность к действию ряда факторов вызывающих ее понижение в условиях оксидативного стресса.

Ключевые слова: глутатионтрансфераза, миоплазма, бедренная мышца, онтогенез, оксидативный стресс.

ВВЕДЕНИЕ

В процессе индивидуального развития изменяется структура и функциональная активность скелетной мускулатуры. В позднем онтогенезе подобные изменения сопровождаются развитием саркопении, которая характеризуется уменьшением массы мышечной ткани и силы мышечного сокращения [1, 2]. Существует достаточно много причин, приводящих к развитию саркопении при старении [3, 4]. Особого упоминания среди них заслуживает оксидативный стресс [5, 6]. Следует заметить, что в качестве своеобразного мессенджера повреждения при оксидативном стрессе выступают накапливающиеся при нем карбонильные продукты свободнорадикального окисления [7]. Образуя аддукты с белками, нуклеиновыми кислотами и аминокислотами, они способствуют появлению характерных для саркопении сдвигов (дисфункции митохондрий, апоптозу, торможению ответа мышечной ткани на действие анаболиков и др.) [2–4]. Принимая это во внимание, можно думать о том, что устойчивость к развитию

саркопении во многом зависит от состояния внутриклеточных ферментативных систем катаболизма карбонильных продуктов метаболизма, связанным с функционированием альдегиддегидрогеназ, альдегидредуктаз и глутатионтрансфераз (ГТ) [8, 9]. Наибольший вклад в этот процесс вносит глутатионтрансфераза [8, 9]. Вместе с тем, до настоящего времени их изучению в скелетной мышце все еще не уделялось должного внимания. Учитывая это, целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение активности ГТ в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы крыс разного возраста, а также особенностей ее модуляции под влиянием факторов, возникающих при оксидативном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 30 крыс самцов линии Вистар. Животных делили на 3 возрастные группы: 1 – 1,5-месячные (крысы в возрасте полового созревания); 2 – 12-месячные (взрослые половозрелые); 3 – 24-месячные (старые).

Крыс декапитировали, извлекали бедренную мышцу и немедленно помещали ее в охлажденный 0,9% раствор хлористого натрия. После отмывания от крови кусочки мышечной ткани тщательно измельчали ножницам. Навеску мышечной кашицы смешивали из расчета 1 : 3 (масса:объем) с солевой средой, содержащей 0,05 М Трис, 0,005 М сульфата магния и 0,001 М ЭДТА (рН 7,4) и гомогенизировали в течение 3 минут в стеклянном гомогенизаторе Поттера–Эльвегейма с тefлоновым пестиком. Гомогенат фильтровали через 4 слоя марли и центрифугировали при 1000 g в течение 10 минут. Супернатант переносили в чистые центрифужные пробирки и центрифугировали при 10000 g в течение 20 минут. Надосадочную жидкость использовали в качестве постмитохондриальной фракции. Все процедуры по фракционированию гомогената мышцы проводили при 4 – 5°C.

В постмитохондриальной фракции бедренной мышцы определяли активность ГТ [10]. Для выяснения особенностей модуляции ферментативной активности изменяли состав реакционной смеси, в которой проводили ее измерение. Детали подобных экспериментов изложены в разделе “Результаты исследований”. Содержание белка в пробах определяли по методу O. Lowry et al. [11].

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием пакетов прикладных программ Excel и «SPSS Statistics 17,0», с помощью непараметрического метода Wilcoxon-Mann-Whitney. Различия между данными считали достоверными при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что глутатионтрансферазная активность с увеличением возраста животных повышается (рис.1). При этом у взрослых животных она становится на 83 % выше, чем у 1,5-месячных, а у старых – на 32% выше, чем у взрослых соответственно.

Принимая во внимание тот факт, что основной путь утилизации эндогенных альдегидов в цитозоле связан с их конъюгацией с глутатионом в глутатионтрансферазной реакции [8, 9], можно предположить, у крыс пубертатного возраста ограничена скорость катаболизма карбонильных продуктов свободнорадикального окисления в миоплазме мышечных волокон. Это, в свою очередь, предполагает повышение чувствительности мышечных клеток в повреждающему действию оксидативного стресса, сопровождающегося повышением образования альдегидов. В тоже время следует заметить, что в процессе онтогенеза могут существенно меняться регуляторные свойства ферментов.

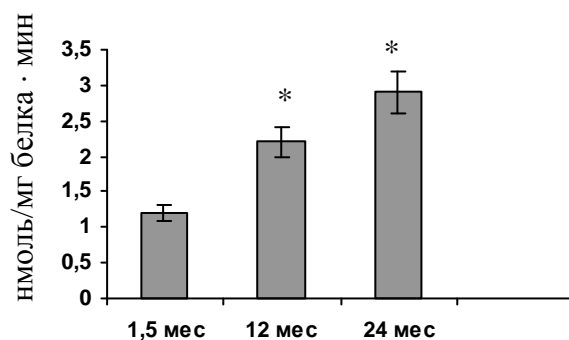


Рис. 1. Активность ферментов катаболизма эндогенных альдегидов (в нмоль/мг белка · мин) в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы интактных крыс разного возраста. * - $P < 0,05$ к 1,5-месячным.

Поэтому в условиях изменения состава внутриклеточной среды при оксидативном стрессе их каталитические свойства тоже будут изменяться. И эти изменения, по всей вероятности, носят зависимый от возраста характер. Все это может серьезно модулировать скорость утилизации эндогенных альдегидов в мышечных клетках *in situ*, а значит вносить коррективы в отношении чувствительности мышечных клеток к повреждающему действию оксидативного стресса.

Учитывая выше изложенное, дальше было проведено изучение особенностей влияния ряда факторов, возникающих в условиях оксидативного стресса, на глутатионтрансферазную активность. К таковым относятся возникновение метаболического ацидоза, накопление активных форм кислорода и карбонильных продуктов свободнорадикального окисления, а также понижение уровня восстановленного глутатиона [12]. Поэтому в дальнейших экспериментах было изучено влияние перечисленных факторов на глутатионтрансферазную активность в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы крыс разного возраста. С этой целью глутатионтрансферазная активность измерялась в реакционной смеси [10], в которой: понижалась величина pH до 6,0; уменьшалась концентрация восстановленного глутатиона до 0,5 мМ; добавлялся глутаровый альдегид (0,5 мМ) или вносилась перекись водорода (10мМ) (указаны конечные концентрации).

Исследования показали, что при понижении pH реакционной смеси у 1,5- 12- и 24 месячных крыс происходит ее уменьшение на 53%, 32% и 37% соответственно, по сравнению с исходной величиной (рис. 2). Понижение концентрации восстановленного глутатиона в среде инкубации сопровождается уменьшением глутатионтрансферазной активности в постмитохондриальной фракции мышцы 1,5- и 12-месячных крыс на 50% и 28% соответственно, по сравнению с ее исходной величиной. В тоже время глутатионтрансферазная активность в мышце 24-месячных крыс не изменяется. Уменьшение глутатионтрансферазной активности наблюдается после преинкубации постмитохондриальной фракции с 0,5 мМ глутарового альдегида. При этом у 1,5-, 12- и 24-месячных крыс она понижается на 71%, 66% и 72% соответственно, по сравнению с ее исходным уровнем. Внесение в реакционную смесь для определения глутатионтрансферазной активности 10 мМ перекиси водорода не приводит к изменению ее величины.

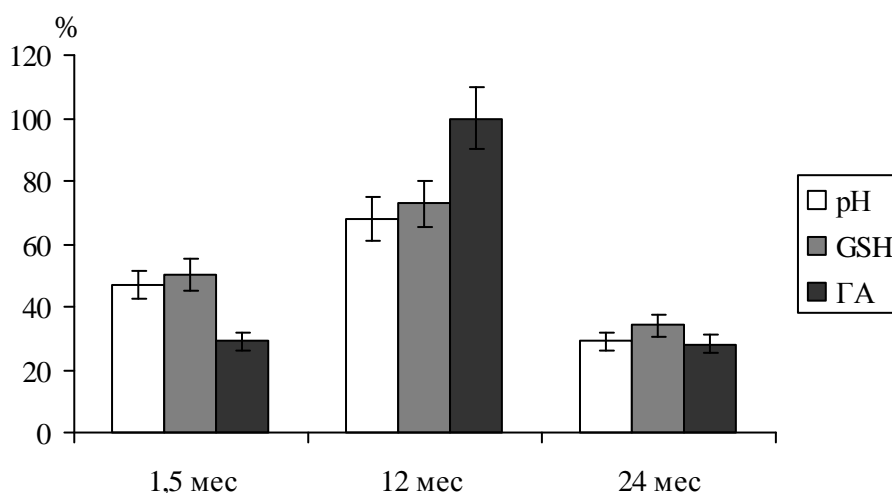


Рис. 2. Изменение глутатионтрансферазной активности в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы крыс разного возраста при понижении pH (pH), понижении содержания восстановленного глутатиона в реакционной смеси (GSH) и после преинкубации с глутаровым альдегидом (ГА). Активность фермента в контроле (неизмененный состав реакционной смеси) принята за 100%. По результатам исследований на 6 крысах в каждой возрастной группе.

Оценивая результаты проведенных исследований можно заметить, что в процессе онтогенеза меняется чувствительность глутатионтрансферазы к действию исследованных регуляторных факторов. При этом наименьшей чувствительностью к эффекту пониженного pH и уменьшению концентрации субстрата (глутатиона) обладает фермент из мышцы старых животных, а наибольшей – фермент из мышцы крыс пубертатного возраста. Однако все они в равной мере ингибируются после преинкубации постмитохондриальной фракции с глутаровым альдегидом.

Анализ полученных данных позволяет высказать предположение о том, что в пубертатном возрасте в миоплазме мышечных волокон возникает неблагоприятная ситуация с катаболизмом эндогенных альдегидов. Причиной того, является сравнительно низкая базальная активность глутатионтрансферазы и ее высокая чувствительность к ингибирующему действию ряда факторов возникающих в клетке в условиях оксидативного стресса. Принимая во внимание особый вклад данного метаболического пути в утилизацию эндогенных альдегидов, можно думать о том, что в условиях оксидативного стресса в миоплазме мышечных клеток возникают предпосылки для накопления эндогенных альдегидов и, соответственно, их повреждения в условиях воздействия факторов, реализующих свое повреждающее действие через возникновение оксидативного стресса. Как следствие того, усиливается ингибирование фермента и за счет накапливающихся в клетке альдегидов.

В меньшей мере это характерно для старения. На данном этапе онтогенеза имеет место повышение глутатионтрансферазной активности и одновременное понижение чувствительности энзима к ингибирующему эффекту факторов, возникающих в клетке при оксидативном стрессе (ацидозу и понижению концентрации восстановленного глутатиона). Таким образом, формирование саркопении при старении не связано с изменением эффективности утилизации эндогенных альдегидов в миоплазме мышечной клетки.

Резюмируя выше изложенное, следует заметить, что в процессе онтогенеза происходит изменение глутатионтрансферазной активности и модуляция ее устойчивости к действию факторов, возникающих в клетке при оксидативном стрессе (метаболический ацидоз, понижение уровня восстановленного глутатиона и накопление карбонильных продуктов обмена). Все это формирует предпосылки для возрастного изменения устойчивости скелетной мышцы к действию негативных факторов оксидативного стресса. Наибольшую чувствительность к повреждению имеет мышца в пубертатном возрасте. В тоже время во взрослом возрасте и при старении в миоплазме мышцы формируются предпосылки для эффективной утилизации карбонильных продуктов свободнорадикального окисления.

Анализируя вероятные причины обнаруженных возрастных изменений со стороны активности и регуляторных свойств глутатионтрансфераз можно предположить важную роль в том изменения их изоферментного спектра в миоплазме мышечных клеток. Именно с изменением изоферментного спектра может быть связано повышение уровня базальной глутатионтрансферазной активности, а также модуляция ее регуляторных свойств. Причиной того неодинаковые каталитические и регуляторные свойства отдельных изоферментов. В основе появления этих сдвигов могут лежать возрастные особенности регуляции скорости экспрессии генов отдельных изоферментов, т.к. в роли индукторов синтеза могут выступать различные гормоны, уровень секреции которых изменяется как в пубертатном возрасте, так и при старении. Вместе с тем высказанное предположение требует экспериментальной проверки, чему и будут посвящены наши дальнейшие исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Глутатионтрансферазная активность возрастает с увеличением возраста животных.
2. Глутатионтрансферазная активность понижается при снижении рН среды, при уменьшении концентрации восстановленного глутатиона в среде инкубации и после преинкубации фермента с глутаровым альдегидом.
3. Для 1,5-месячного возраста (период полового созревания) характерна наибольшая чувствительность глутатионтрансферазы к действию ацидоза и понижения концентрации восстановленного глутатиона.

Список литературы

1. Czarkowska-Paczek B. Age-related muscle mass loss / B. Czarkowska-Paczek, S. Milczarczyk // *Przegl. Lek.* – 2006. – Vol. 63, № 8. – P.658 – 661.
2. Narici M.V. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance / M.V. Narici, N. Maffulli // *Br. Med. Bull.* – 2010. – Vol. 95. – P. 139 – 159.
3. Boirie Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia / Y. Boirie // *J. Nutr. Health Aging.* – 2009. – Vol. 13, № 8. – P. 717 – 723.
4. Frontera W.R. Aging of human muscle: understanding sarcopenia at the single muscle cell level / W.R. Frontera, A.R. Zayas, N. Rodriguez // *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* – 2012. – Vol. 23, № 1. – P. 201 – 207.
5. Chen C.N. Muscle disuse: adaptation of antioxidant systems is age dependent / C.N. Chen, H.M. Brown-Borg, S.G. Rakoczy, L.V. Thompson // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* – 2008. – Vol. 63, № 5. – P. 461 – 466.
6. Hindle A.G. Muscle aging and oxidative stress in wild-caught shrews / A.G. Hindle, J.M. Lawler, K.L. Campbell, M. Homing // *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 155, № 4. – P. 427–234.
7. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular disease / K. Uchida // *Free Radical. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28, №12. – P. 1685 – 1696.
8. Davydov V.V. Possible role of aldehyde,s scavenger enzymes during aging / V.V. Davydov, N.M. Dobaeva, A.I. Bozhkov // *Exp. Gerontol.* – 2004. – Vol. 39. – P. 11 – 16.
9. Давыдов В.В. Физиологическая и патофизиологическая роль эндогенных альдегидов / В.В. Давыдов, А.И. Божков, О.К. Кульчицкий. – Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240 с.
10. Mannervik B. Glutathione transferase / B. Mannervik, C. Guthenberg // *Methods Enzymology.* – 1981. – Vol. 77. – P. 231 – 235.
11. Lowry O.H/ Protein measurement with the Pholin phenol reagent / O.H. Lowry, K.I. Rosenbrough, A.L.Farr et al. // *J. Biol. Chem.* – 1955. – Vol. 193, № 1. – P. 265 – 267.
12. Грабовецкая Е.Р. Возрастные особенности модуляции глутатионтрансферазной активности постмитохондриальной фракции миокарда крыс возникающими при стрессе факторами / Е.Р. Грабовецкая, В.В. Давыдов // *Проблемы старения и долголетия.* – 2009. – Т. 18, № 3. – С. 295–300.

Амжад Хамдаллах. Вікові особливості модуляції глутатіонтрансферазної активності в постмітохондріальній фракції стегнового м'яза щурів / Амжад Хамдаллах, В. В. Давыдов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 3-10.

Метою цього дослідження було порівняльне вивчення глутатіонтрансферазної активності в постмітохондріальній фракції стегнового м'яза щурів 1,5 - , 12 - і 24 -місячного віку, а також особливостей її модуляції під впливом факторів, що виникають в клітинах в умовах оксидативного стресу. Дослідження показали, що активність ГТ підвищується зі збільшенням віку тварин. Одночасно змінюється чутливість ферменту до інгібуючого ефекту ацидозу та зниження концентрації відновленого глутатіону. Для 1,5 -місячного віку (пубертат) характерна найменша базальна активність глутатіонтрансферази а також її найбільша чутливість до дії ряду факторів, що викликають її зниження в умовах оксидативного стресу.

Ключові слова: глутатіонтрансферази, цитозоль, стегновий м'яз, онтогенез, оксидативний стрес.

AGE PECULIARITIES MODULATION OF GLUTATHIONE TRANSFERASE ACTIVITY IN POSTMITOCHONDRIAL FRACTION OF FEMORAL MUSCLE OF RATS*Amjad Hamdallah¹, Davydov V.V.^{1,2}*¹*Kharkov V.N. Karazin National University, Kharkov, Ukraine*²*SU "Institute of children and adolescent health care National medical academy of science of Ukraine", Kharkov, Ukraine**E-mail: vaddavydov@mail.ru*

There is change structure and function of skeletal muscle occur during ontogenesis. The aging accompanied by sarcopenia. That condition is manifested by decrease mass of skeletal muscle and strength of muscle contraction. Oxidative stress has pivotal role in development of sarcopenia. It should note that oxidative stress brings to increase formation of various cytotoxic carbonyl products these promote injury of muscle cells. Taking it into account we propose existence of relationship between resistance to development of sarcopenia and effectiveness utilization of endogenous aldehydes in enzyme catalyzed catabolic pathways. There is reaction of their conjugation with glutathione catalyzed by glutathione transferase the most important in this way. For this reason this study was designed to investigate activity of glutathione transferase in postmitochondrial fraction of femoral muscle rats with different ages and reveal peculiarity of its modulation under effect of different factors arise during oxidative stress. Thirty male Wistar rats were used. All animals were divided into 3 groups: 1 – 1,5-months-old (pubertal rats); 2 – 12-months-old (maturated adult rats); and 3 – 24-months-old ones (aged rats). Femoral muscle was use for preparation of postmitochondrial fraction. Activity of glutathione transferase was determined in that fraction. Composition of reaction mixture for determination of enzyme activity was modified in order to reveal peculiarity of its modulation under effect of decrease pH and concentration of reduced glutathione, and increase concentration of aldehydes. Obtained results undergone statistic analysis by method Wilcoxon-Mann-Whitney.

It has been revealed age-related changes of glutathione transferase activity and modulation of it sensitivity to effect of different factors which emerge in the cell during oxidative stress (metabolic acidosis, decrease level of substrate – reduced glutathione, and increase level of carbonyl products of free radical oxidation). Assay showed that glutathione transferase from postmitochondrial fraction of femoral muscle of old rats has a less sensitivity to effect of decrease pH and decrease concentration of glutathione in the reaction mixture. In other hand that enzyme from pubertal rats has most sensitivity to effect the same factors. However, glutathione transferase from postmitochondrial fraction of muscle all age groups of rats has the same sensitivity to inhibitory action of glutaric aldehyde.

Our results indicate the low basal activity of glutathione transferase and it's the most sensitivity to inhibitory effects some factors in myoplasm of muscle cells at pubertal rats. These changes provoke accumulation of endogenous aldehydes in muscle cells and as result bring to injury ones during condition coupled with formation oxidative stress. There is increase of basal glutathione transferase activity and decrease sensitivity of glutathione transferase to inhibitory effect of metabolic acidosis, and decrease of reduced glutathione

level in postmitochondrial fraction of old rats. Obtained data point out high efficiency of the process utilization of carbonyl products of free radical oxidation in muscle cells in glutathione transferase reaction. That's why formation of sarcopenia in senescence isn't coupled with changes in efficiency of utilization carbonyl products of free radical oxidation in glutathione transferase reaction in myoplasm of skeletal muscle cells.

Moreover obtained data indicate that modulation of glutathione transferase activity and its regulatory properties predetermines appear of age-related changes in sensitivity of skeletal muscle to oxidative stress. The most sensitivity to injury effect of oxidative stress has muscle in pubertal age. There is arise conditions for increase efficiency catabolism of carbonyl products of free radical oxidation in myoplasm of muscle cells in glutathione transferase reaction in adult and old ages. We propose that reason of all revealed changes concern basal level of glutathione transferase activity and modulation regulatory properties of that enzyme associated with age-related changes in spectra of glutathione transferase isozymes in myoplasm muscle cells. In turn it may result from age-related changes in hormonal regulation expression of isozymes glutathione transferase genes in skeletal muscle tissue. However this proposition needs in experimental corroboration. Study one will be aim of our next investigation.

Keywords: glutathione transferase, myoplasm, femoral muscle, ontogenesis, oxidative stress.

References

1. Czarkowska-Paczek B., Milczarczyk S. Age-related muscle mass loss, *Przegl. Lek.*, **63**, 658 (2006).
2. Narici M.V., Maffulli N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance, *Br. Med. Bull.*, **95**, 139 (2010).
3. Boirie Y. Physiopathological mechanism of sarcopenia, *J. Nutr. Health Aging*, 2009, **13**, 717 (2009).
4. Frontera W. R., Zayas A.R., Rodriguez N. Aging of human muscle: understanding sarcopenia at the single muscle cell level, *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.*, 2012, **23**, 201 (2012).
5. Chen C.N., Brown-Borg H.M., Rakoczy S.G., Thompson L.V. Muscle disuse: adaptation of antioxidant systems is age dependent, *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, 2008 **63**, 461 (2008).
6. Hindle A.G., Lawler J.M., Campbell K.L., Horning M. Muscle aging and oxidative stress in wild-caught shrews, *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 2010 **155**, 427 (2010).
7. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular disease, *Free Radical. Biol. Med.*, **28**, 1685 (2000).
8. Davydov V.V., Dobaeva N.M., Bozhkov A.I. Possible role of aldehyde's scavenger enzymes during aging, *Exp. Gerontol.*, **39**, 11 (2004).
9. Davydov V.V., Bozhkov A.I., Kulchitski O.K. *Physiological and pathophysiological role of endogenous aldehydes*. 240 p. (Palmarium Academic Publishing, 2012).
10. Mannervik B., Guthenberg C. Glutathione transferase, *Methods Enzymology*, **77**, 231 (1981).
11. Lowry O.H., Rosenbrough K.I., Farr A.L. et al. Protein measurement with the Pholin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1955).
12. Grabovetskaya E.R., Davydov V.V. Age peculiarities in modulation of glutathione transferase activity by different factors arise during stress in myocardium postmitochondrial fraction, *Problems of Aging and Longevity*, **18**, 295 (2009).

Поступила в редакцию 22.04.2014 г.

УДК 631.4:634.9

**ЭКОМОРФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЗОФАУНЫ
ДЕРНОВО-ЛИТОГЕННЫХ ПОЧВ НА СЕРО-ЗЕЛЕННЫХ ГЛИНАХ УЧАСТКА
РЕКУЛЬТИВАЦИИ НИКОПОЛЬСКОГО МАРГАНЦЕВО-РУДНОГО
БАССЕЙНА**

Андрусевич Е.В.

*Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, Днепропетровск,
Украина
E-mail: eandrusevich@mail.ru*

В работе приведена экоморфическая характеристика животного населения дерново-литогенных почв на серо-зеленых глинах участка рекультивации Никопольского марганцево-рудного бассейна. Материал отобран на участке рекультивации Днепропетровского государственного аграрно-экономического университета (Днепропетровская обл., Г. Орджоникидзе) в апреле–мае 2012 г. Мезофауна дерново-литогенных почв на серо-зеленых глинах представлена 63 видами беспозвоночных животных. Мезофауна дерново-литогенных почв на серо-зеленых глинах представлена 63 видами беспозвоночных животных. В экоморфической структуре животного населения доминируют: среди ценоморф – степанты; гигроморф – мезофильные виды; трофоценоморф – ультрамегаценоотрофы; топоморф – эпигейные виды; трофоморф – фитофаги.

Ключевые слова: мезофауна, экоморфы, рекультивация.

ВВЕДЕНИЕ

Почвенная мезофауна – фаунистический комплекс, состоящий из крупных беспозвоночных. Важность изучения населения почвенных беспозвоночных обусловлена их огромной ролью в жизни почвы, где они не только обитают, но и активно формируют структуру почвенных горизонтов [1].

Состояние почвенной фауны отражает процессы, протекающие в почве, а информация о населении почв помогает понять особенности почвообразования в различных типах почв [2]. Интенсивность и направленность процессов в почвенном блоке являются важнейшими индикаторами динамики экосистемы. Зооиндикация почвенных процессов является одним из приоритетных направлений исследований в экологии на протяжении многих десятилетий [2; 3].

Основой анализа экологической структуры сообществ живых организмов, является жизненная форма [4]. Экологическое разнообразие может быть количественно оценено на основе принципов экоморфического анализа Акимова–Бельгарда. Спектры экоморф дают возможность провести диагностику существенных свойств и естественных биогеоценозов и техногенно трансформированных

ландшафтов [5]. По Д. Р. Кашкарову (1933) [6], не видовой состав, а преобладание и соотношение тех или иных жизненных форм характеризуют сообщество.

Экоморфы отражают отношения живых организмов к экологическим факторам. По Вильямсу (1939), к космическим факторам принадлежат свет и тепло, а к наземным – вода и еда. Отношение к космическим факторам отражают климатоморфы, термоморфы, гелиоморфы растений и животных [4; 7; 8], а также трофоценоморфы и топоморфы животных. Отношения к наземным факторам отражают трофоморфы и гигроморфы.

Цель работы – дать экоморфическую характеристику животного населения дерново-литогенных почв на серо-зеленых глинах участка рекультивации Никопольского марганцево-рудного бассейна.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал отобран на участке рекультивации Днепропетровского государственного аграрного университета Никопольского марганцево-рудного бассейна (Днепропетровская обл., Г. Орджоникидзе) в апреле–мае 2012 г. Пробы отобраны в дерново-литогенных почвах на серо-зеленых глинах.

Материал отобран по регулярной сетке – 7 трансект по 15 проб в каждой, в сумме 105 проб. Лаг между трансектами и пробами 3 м. Учет почвенных беспозвоночных провели методом почвенных прикопок и ручной разборки почвенных образцов. Размер пробы по стандартным методикам почвенно-зоологических исследований [9] составлял 0,25×0,25 м.

Учет герпетобионтных моллюсков (Mollusca, Gastropoda) провели методом ручной выборки. Размер пробы составлял 0,5 × 0,5 м.

Общее проективное покрытие и проективное покрытие отдельно каждого вида проводилась по стандартной методике геоботанических исследований – по визуальной шкале с градациями 0, 10, ..., 90, 100% [10]. Растительность дерново-литогенных почв на серо-зеленых глинах представлена 32 видами высших сосудистых растений, среди которых доминируют *Seseli campestre* (Besser), *Bromus squarrosus* (L.), *Medicago sativa* (L.), *Lactuca tatarica* (L.). Субдоминантами является *Consolida regalis* (S.F. Gray), *Falcaria vulgaris* (Bernh). Общее проективное покрытие составляет 20,1 %.

Экоморфы почвенных животных приведены по А.В. Жукову [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате наших исследований животного населения в дерново-литогенных почвах на серо-зеленых глинах установлено, что мезофауна представлена 63 видами беспозвоночных животных. Плотность почвенной мезофауны изученного полигона составляет 170,6 экз./м².

Характеристика таксономического и экологического разнообразия сообщества мезопедобионтов изучаемого полигона представлена в табл. 1.

Установлено, что на изученном полигоне доминируют следующие группы беспозвоночных – гастроподы (102,7 экз./м²), жуки-чернотелки (22,3 экз./м²), диплоподы (12,9 экз./м²) и паукообразные (5,0 экз./м²).

Таблица 1

Видовой состав и обилие почвенной мезофауны пробного полигона на дерново-литогенных почвах на серо-зеленых глинах

Семейство	Род	Вид	Цено-морфа	Гигро-морфа	Цено-трофо-морфа	Топо-морфа	Трофо-морфа	Плотность, экз./м ²
Тип Annelidae, класс Oligochaeta, отряд Nematoda								
Lumbricidae	Aporrectodea	<i>Aporrectodea trapezoides</i> (Dugès, 1828)	Pr	Hg	MsTr	End	SF	0,91
Тип Arthropoda, класс Arachnida, отряд Aranei								
Aranea sp.	Aranea sp.	<i>Aranea sp.</i>	St	Ks	MsTr	Ep	ZF	5
Отряд Geophilomorpha								
Geophilidae	Diphyonyx	<i>Diphyonyx sukacevi</i> (Folkmanová, 1956)	St	Ks	MgTr	Anec	ZF	1,7
	Escaryus	<i>Escaryus retusidens</i> (Attems, 1904)	St	Ms	MgTr	End	ZF	0,2
Отряд Lithobiomorpha								
Lithobiidae	Lithobius	<i>Lithobius aeruginosus</i> (Koch, 1862)	Pal	Ms	MgTr	Ep	ZF	0,2
Класс Diplopoda								
Julidae	Rossiulus	<i>Rossiulus kessleri</i> (Lohmander, 1927)	St	Ms	MsTr	Ep	SF	13
Класс Insecta, ряд Coleoptera								
Cantharidae	Cantharis	<i>Cantharis rufa</i> (Linnaeus, 1758)	St	UHg	UMgTr	Ep	ZF	0,3
Carabidae	Amara	<i>Amara aenea</i> (De Geer, 1774)	St	Ks	UMgTr	Ep	FF	0,9
		<i>Amara apricaria</i> (Paykull 1790)	St	Ks	UMgTr	Ep	FF	0,2
		<i>Amara consularis</i> (Duftschmid 1812)	St	Ks	UMgTr	Ep	FF	0,6
	Calathus	<i>Calathus ambiguus</i> (Paykull 1790)	St	Ms	UMgTr	Ep	ZF	0,2
		<i>Calathus fuscipes</i> (Goeze 1777)	St	Ms	UMgTr	Ep	ZF	0,2
		<i>Calathus melanocephalus</i> (Linne 1758)	St	Ms	UMgTr	Ep	ZF	0,3
	Demetrias	<i>Demetrias monostigma</i> (Samuelle 1819)	St	Ks	UMgTr	End	ZF	0,2
Harpalus	Harpalus	<i>Harpalus distinguendus</i> (Duftschmid 1812)	Pal	Hg	MsTr	Ep	FF	0,3
		<i>Harpalus griseus</i> (Panzer 1796)	Pr	Ms	MsTr	Ep	FF	0,3
		<i>Harpalus latus</i> (Linne 1758)	St	Ks	MsTr	Ep	FF	0,2
		<i>Harpalus picipennis</i> (Duftschmid 1812)	St	Ks	OITr	Ep	FF	0,3
		<i>Harpalus rubripes</i> (Duftschmid 1812)	Sil	Ms	MsTr	Ep	FF	0,3
		<i>Harpalus serripes</i> (Schonherr 1806)	Sil	Ms	MsTr	Ep	FF	0,2

		<i>Harpalus signaticornis</i> (Duftschmid 1812)	Sil	Ms	MsTr	Ep	FF	1,8
		<i>Harpalus sp.</i>	-	-	-	-	-	0,9
		<i>Harpalus tardus</i> (Panzer 1797)	St	Ks	OITr	Ep	FF	0,3
	Notiophilus	<i>Notiophilus palustris</i> (Duftschmid 1812)	Pal	UHg	UMgTr	Ep	ZF	0,2
	Ophonus	<i>Ophonus azureus</i> (Fabricius 1775)	St	Ks	MgTr	Ep	FF	0,2
		<i>Ophonus puncticollis</i> (Paykull 1798)	St	Ks	MgTr	Ep	FF	1,8
		<i>Ophonus rufibarbis</i> (Fabricius 1792)	St	Ks	MgTr	Ep	FF	0,2
	Paradromius	<i>Paradromius ruficollis</i> (Motschulsky 1844)	St	Ks	OITr	Ep	ZF	0,3
	Pterostichus	<i>Pterostichus macer</i> (Marsham 1802)	St	Ms	UMgTr	Ep	ZF	0,3
		<i>Pterostichus sp.</i>	-	-	-	-	-	0,2
	Dorcadion	<i>Dorcadion caucasicum</i> (Küster 1847)	St	Ks	MsTr	End	FF	0,2
		<i>Dorcadion holosericeum</i> (Krynicky 1832)	St	Ks	MsTr	End	FF	0,2
	Theophilea	<i>Theophilea</i> <i>subcylindricollis</i> (Hladil 1988)	St	Ks	UMgTr	End	FF	0,2
Chrysomelid ae	Entomosce lis	<i>Entomoscelis adonidis</i> (Pallas 1771)	St	Ms	MgTr	End	FF	0,3
	Galeruca dahlii	<i>Galeruca dahlii</i> (Joannis 1866)	St	Ms	MsTr	End	ZF	0,2
Curculionidae	Cyphocleo nus	<i>Cyphocleonus tigrinus</i> (Panzer 1789)	St	Ks	UMgTr	End	FF	0,2
	Lixus	<i>Lixus sp. sp.</i>	-	-	-	-	-	0,2
	Otiorrhynch us	<i>Otiorrhynchus sp.</i>	-	-	-	-	-	0,3
	Tanymecus	<i>Tanymecus palliatus</i> (Fabricius 1787)	St	Ks	UMgTr	End	FF	0,2
Elateridae	Agriotes	<i>Agriotes similis</i> (Linnaeus)	St	Ks	MgTr	End	FF	0,2
Geotrupidae	Lethrus	<i>Lethrus apterus</i> (Laxmann 1770)	St	Ks	MgTr	End	SF	0,2
Melolonthidae	Anoxia	<i>Anoxia pilosa</i> (Fabricius 1792)	Sil	Ms	MsTr	End	FF	0,2
Scarabaeidae	Onthophagus	<i>Onthophagus vitulus</i> (Fabricius 1777)	St	Ks	UMgTr	End	ZF	0,3
Silphidae	Silpha	<i>Silpha carinata</i> (Herbst 1783)	Pal	Ms	MgTr	Ep	SF	0,2
		<i>Silpha obscura</i> (Linnaeus 1758)	Pal	Ms	MgTr	Ep	SF	0,2
Staphilinidae	Leptacinus	<i>Leptacinus batychrus</i> (Gyllenhal 1827)	St	Ms	MsTr	End	ZF	0,2
	Ocypus	<i>Ocypus similis</i> (Fabricius 1792)	St	Ks	UMgTr	End	ZF	0,3

ЭКОМОРФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЗОФАУНЫ ...

Продолжение таблицы 1

Tenebrionidae	Cylindronotus	<i>Opatrum sabulosum</i> (Linnaeus 1761)	St	Ks	UMgTr	End	FF	22
	Dendarus	<i>Dendarus punctatus</i> (Serville 1825)	St	Ks	UMgTr	End	FF	0,3
	Gonocephalum	<i>Gonocephalum pussilum</i> (Fabricius 1791)	St	Ks	UMgTr	End	FF	0,2
	Oodescelis	<i>Oodescelis melas</i> (Fischer von Waldheim 1823)	St	Ks	UMgTr	End	FF	1,2
		<i>Oodescelis polita</i> (Sturm 1807)	St	Ks	UMgTr	End	FF	0,6
	Podonta	<i>Podonta daghestanica</i> (Reitter 1885)	St	Ks	UMgTr	End	FF	2,6
Отряд Lepidoptera								
Noctuidae	Noctuidae sp.	<i>Noctuidae sp. sp.</i>	-	-	-	-	FF	0,2
Класс Malacostraca, отряд Isopoda								
Trachelipodidae	Trachelipus	<i>Trachelipus rathkii</i> (Brandt 1833)	Pr	Ms	MgTr	Эпигейные	SF	5
Тип Mollusca, класс Gastropoda, отряд Nuditaxida								
Enidae	Brephulopsis	<i>Brephulopsis cylindrica</i> (Menke 1828)	St	Ms	UMgTr	Эпигейные	FF	85
	Chondrula	<i>Chondrula tridens</i> (O.F.Müller 1774)	St	Ks	MgTr	Эпигейные	FF	5,8
Helicidae	Helix	<i>Helix lucorum martensii</i> (Boettger 1883)	St	Ms	UMgTr	Эпигейные	FF	1,2
Отряд Stylommatophora								
Hygromiidae	Monacha	<i>Monacha cartusiana</i> (Müller 1774)	St	Ms	MsTr	Эпигейные	FF	12

Примечания: ценоморфы: St – степанты, Pr – пратанты, Pal – паллюданты, Sil – сильванты; гигроморфы: Ks – ксерофилы, Ms – мезофиллы, Hg – гигрофилы, UHg – ультрагигрофилы; ценотрофоморфы: MsTr – мезотрофы; MgTr – мегатрофы; UMgTr – ультрамегатрофы; топоморфы: End – эндогейные. Ep – эпигейные, Anec – норники; трофоморфы: SF – сапрофаги; FF – фитофаги; ZF – зоофаги.

Наземные моллюски (Gastropoda, Mollusca) представлены 4 видами, среди которых доминируют *Brephulopsis cylindrica*, *Monacha cartusiana*, *Chondrula tridens* с плотностью популяций 85,0, 11,9 5,8 экз./м² соответственно. Данные виды обитатели, дернины, травостоя и почвы, предпочитают открытые степные биотопы [11].

Из класса диплоподы (Diplopoda) обнаружен 1 вид – *Rossiulus kessleri*. Данный вид – калькофил, играет важную роль в почвообразовании, способствуя гумификации, минерализации растительного опада, аккумуляции и обогащению почвы кальцием, а также созданию зернистой структуры почвы [12]. Данный вид зафиксирован с плотностью популяции 12,9 экз./м².

Паукообразные (Aranea) – группа хищников в составе мезофауны наземных экосистем [13]. Плотность популяции паукообразных составляет 5,0 экз./м².

Жуки-чернотелки (Coleoptera: Tenebrionidae) – сухолюбивые фитосапрофаги, которые повреждают в том числе и культурные растения. Жуки и их личинки участвуют в почвообразовательных процессах и служат почвенными индикаторами [14]. На

исследованном полигоне обнаружено 6 видов чернотелок, из которых наибольшей плотностью популяции характеризуется *Opatrum sabulosum* (22,3 экз./м²).

С точки зрения видового богатства животного населения изученного полигона биоморфическая – экоморфическая структура выглядит следующим образом: среди ценоморф доминируют степанты (91,8 %), в подчиненном положении находятся пратанты (4,4 %), сильванты (2,8 %) и палюданты (0,9 %). В спектре гигроморф в подавляющем большинстве представлены мезофилы, с долей участия 65,3 %, сравнительно меньше ксерофилов – 33,0 %, гигрофилов – 1,3 % и ультрагигрофилов – 0,5 %. В составе ценотрофоморф доминируют ультрамегаценотрофы (52,2 %), несколько меньше мезоцено– (30,9 %), мегацено– (15,6 %) и олигоценотрофов (0,5 %). Топоморфы представлены эпигейными видами (81,4 %), эногейными (17,1 %) и норниками (1,4 %). Спектр трофоморф представлен таким распределением: фитофаги – 81,4 %, зоофаги – 3,3 %, и сапрофаги – 3,9 %.

На пробном полигоне дерново– литогенных почв на серо-зеленых глинах зафиксирована следующая структура биоморф–экоморф по обилию почвенной мезофауны, представленная на рис. 1.

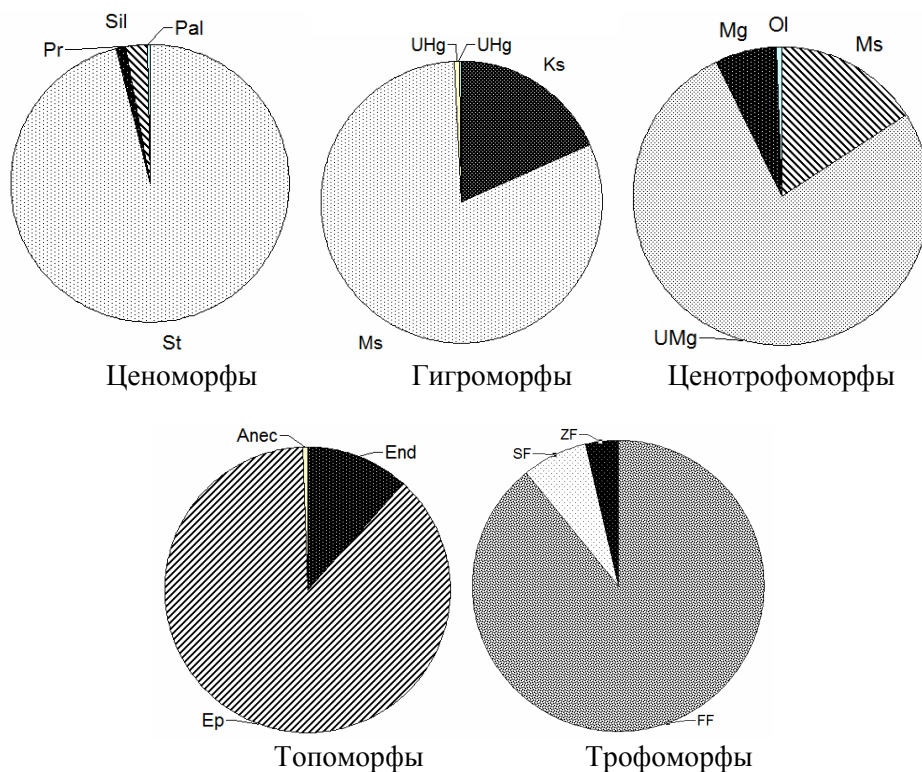


Рис. 1. Экологическая структура почвенной мезофауны (по обилию).
Условные обозначения: см. табл. 1.

В результате наших исследований установлено, что в ценоморфическом аспекте 96,1 % животного населения пробного полигона относятся к степантам, 2,3 % – к пратантам, 1,2 % – к сильвантам и 0,4 – к палюдантам. Зафиксировано, что среди гироморф ведущую роль играют мезофильные виды (81,0 %). Подчиненное положение занимают ксерофилы, с долей участия 18,3 %, гигрофиллы – 0,5 % и ультрагигрофилы – 0,2 %. Трофоценоморфическая структура животного населения изученного полигона состоит из ультрамегаценотрофов – 77,1 %, мезоценотрофов – 15,8 %, мегаценотрофов – 6,7 %, и олигоценотрофов – 0,5 %. Спектр топоморф представлен эпигейными, эндогейными и норниками видами, с долей участия 87,8 %, 11,6 % и 0,6 % соответственно. Трофоморфы представлены на 89,1 % фитофагами, на 7,2 % сапрофагами, и на 3,7 % зоофагами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Мезофауна дерново–литогенных почв на серо-зеленых глинах представлена 63 видами беспозвоночных животных. Плотность почвенной мезофауны изученного полигона составляет 170,6 экз./м².
2. Доминирующими группами почвенной мезофауны в дерново–литогенных почвах на лессовидных суглинках являются гастроподы (102,7 экз./м²), жуки-чернотелки (22,3 экз./м²), диплоподы (12,9 экз./м²) и паукообразные (5,0 экз./м²).
3. В экоморфической структуре животного населения доминируют: среди ценоморф – степанты; гироморф – мезофильные виды; трофоценоморф – ультрамегаценотрофы; топоморф – эпигейные виды; трофоморф – фитофаги.

Список литературы

1. Lavelle P. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers / P. Lavelle, D. Bignell, M. Lepage // *European Journal of soil biology*. – 1997. – Vol. 33. – P. 159-193.
2. Гиляров М. С. Зоологический метод диагностики почв / Гиляров М.С. – М.: Наука, 1965 – 275 с.
3. Жуков А.В. Экоморфические спектры комплексов дождевых червей в зоологической диагностике почв / А.В. Жуков, В.В. Жукова // *Вестник Днепропетр. ун-та. Биология и экология*. – 1997. – Вып. 3. – С. 216-221.
4. Бельгард А.Л. Лесная растительность юго-востока УССР / Бельгард А.Л. – К.: Изд-во Киевского гос. ун-та, 1950. – 294 с.
5. Жуков О.В. Экоморфичний аналіз консорцій ґрунтових тварин: моногр. / Жуков О.В. – Д.: Вид-во «Свідлер А.Л.», 2009. – 239 с.
6. Кашкаров Д.Н. Среда и общество (основы синэкологии) / Кашкаров Д.Н. – М.: Медгиз., 1933. – 244 с.
7. Бельгард А.Л. Изучение взаимодействия растительности с почвами в лесных биогеоценозах степной Украины в свете воззрений С.В. Зонна / А.Л. Бельгард, А.П. Травлев // *Вопросы биологической диагностики лесных биогеоценозов Присамарья*. – Д.: ДГУ, 1980. – С. 5-12.
8. Бельгард А.Л. Степное лесоведение / Бельгард А.Л. – М.: Лесн. пром-сть, 1971. – 336 с.
9. Покаржевский А.Д. Пространственная экология почвенных животных / Покаржевский А.Д., Гонгальский К.Б., Зайцев А.С., Савин Ф.А.. – Москва, 2007. – 174 с.
10. Воронов А. Г. Геоботаника / Воронов А.Г. – М.: Высшая школа, 1973. – 730 с.
11. Гураль-Сверлова Н.В. Визначник наземних моллюсків України / Н.В. Гураль-Сверлова, Р.І. Гураль. – Львів, 2012. – 126 с.

12. Соколов Д.Ф. О значении кивсяков и муравьев в трансформации органического вещества под лесными насаждениями в условиях сухой степи / Д.Ф. Соколов // Бюлл. МОИП. Отд. биол. – 1957. – Т. 62 (5). – С. 57–76.
13. Біологічне різноманіття України. Дніпропетровська область. Павуки (Aranei): моногр. / [Прокопенко О.В., Кунах О.М., Жуков О.В., Пахомов О.С.]. – Д.: Вид-во Дніпропетр. нац. ун-ту, 2010 – 340 с.
14. Хоменко В.Н. Жуки-чернотелки (Coleoptera: Tenebrionidae) степных ландшафтов заповедников Украины / В.Н. Хоменко, Л.С. Черней // Кавказский энтомолог. бюллетень, 2009. – № 5 (2). – С. 203–209.

Андрусевич К.В. Екоморфічна характеристика тваринного населення дерново-літогенних ґрунтів на сіро-зелених глинах ділянки рекультивациі Нікопольського марганцеворудного басейну / К.В. Андрусевич // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 11-20.

У роботі приведена екоморфічна характеристика тваринного населення дерново-літогенних ґрунтів на сіро-зелених глинах ділянки рекультивациі Нікопольського марганцеворудного басейну. Матеріал відібраний на ділянці рекультивациі Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету (Дніпропетровська обл., м. Орджонікідзе) в квітні-травні 2012 р. Мезофауна дерново-літогенних ґрунтів на сіро-зелених глинах представлена 63 видами безхребетних тварин. У екоморфічній структурі тваринного населення домінують: серед ценоморф – степанти; гігоморф – мезофільні види; трофоценоморф – ультрамегаценотрофи; топоморф – епігейніе види; трофоморф – фітофаги.

Ключові слова: мезофауна, екоморфи, рекультивация.

THE MESOFAUNA ECOMORPHICAL CHARACTERISTIC OF THE SOD-LITHOGENIC SOIL ON THE GREY-GREEN CLAYS AT THE RECLAMATION SITE OF THE NICOPOL MANGANESE ORE BASIN

Andrusevych E.V.

*Dnipropetrovs'k state agrarian economic University, Dnipropetrovs'k, Ukraine
E-mail: eandrusevich@mail.ru*

Animal community ecomorphical characteristic of sod-lithogenic soil on the green-grey clays at the reclamation site at the Nikopol manganese ore basin. вид Material has been conducted at the reclamation site at the Nikopol manganese ore basin (Dnipropetrovsk region, town Ordzhonikidze) in April-May 2012. Material has been sampled within regular grid which consists of 7 transects of 15 samples in each and there are 105 samples in the amount. Lag between transects and samples was 3 m. The soil invertebrates registration has been conducted by the hand sorting method. Sample size was 0,25×0,25 m by standard techniques of soil-zoological research. Herpetobiont mollusks registration (Mollusca, Gastropoda) have been conducted by the hand sorting method. Sample size was 0,5×0,5 m. As a result of our researching of the green-grey clays animal community has found that mesofauna has presented by 63 species of invertebrates animal. Soil masofauna density of the researching polygon was 170,6 exemplar/m². Invertebrates animals groups such as terrestrial mollusks (102,7 exemplar/m²), darkling beetles (22,3 exemplar/m²), diplopods (12,9 exemplar/m²) and arachnids (5,0 exemplar/m²) were dominated at the researching polygon. Terrestrial mollusks have presented by 4 species

such as *Brephulopsis cylindrica*, *Monacha cartusiana*, *Chondrula tridens* which have had community density 85,0, 11,9 5,8 exemplar/m² respectively. This species were inhabitants of sod, herbage and soil which have preferred open steppe habitats. The millipede *Rossiulus kessleri* has been found as representative of the class of diplopods (Diplopoda). *R. kessleri* has played the important role in soil forming processing, contributes to the process of humification, mineralization of plant litter, accumulation and concentration of soil calcium as well as the creation of granular soil structure. This species has fixed density of community such as 12,9 exemplar/m². Arachnids (Aranea) are a predator group which composed of terrestrial ecosystems mesofauna. Arachnids community density was 5,0 exemplar/m². Darkling beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) are xerophilous phytosaprophagous which have damaged including crop plants. Beetles and their larvae take part in the soil forming processes and serve as soil indicators. There were 6 species of darkling beetles at the research polygon and one of them has characterized by the highest community density such as *Opatrum sabulosum* (22,3 exemplar/m²). The biomorphical–ecomorphical structure from the standpoint of animal community species diversity of the researching polygon as has followed as among coenomorphes has dominated steppe species (91,8 %), in a subordinate position there were meadow species (4,4 %), forest species (2,8 %) and swamp species (0,9 %). The hygromorphes range overwhelmingly have presented by mesophilic species with a share of participation 65,3 %, rather than xerophilic species were 33,0 %, ultrahygrophilic species were 0,5 % and hygrophilic species were 1,3%. As a part of coenotrophomorphes has dominated ultramegacoenotrophes species (52,2 %), rather than mesocoenotrophes species (30,9 %) and megacoenotrophes (15,6 %) and oligocoenotrophes species (0,5 %). Topomorphes have presented by epigeic species (81,4 %), endogeic species (17,1 %) and burrowing species (1,4 %). The trophomorphes range has presented by distribution such as phytophagous (81,4 %), zoophagous (3,3 %) and saprophagous (3,9 %). As a result of our animal community research with the density basis has been found as being in terms of animal community coenomorphes 96,1 % have included to steppe species, 2,3 % have included to meadow species, 1,2 % have included to forest species and 0,4 % have included to swamp species. Mesophilic species (81,0 %) has been found as being dominant in the hygromorphical structure. The subdominants were xerophilic species (18,3 %), and hygrophilic species (0,5 %) and ultrahygrophilic species (0,2 %). The animal community trophocoenomorphical structure of the researching polygons has consisted of ultramegacoenotrophes (77,1 %), mesocoenotrophes (15,8 %), megacoenotrophes (6,7 %) and oligocoenotrophes (0,5 %). The topomorphes range has presented by epigeic species (87,8 %), endogeic species (11,6 %) and burrowing species (0,6 %). Tropomorphes has presented by phytophagous (89,1 %), saprophagous (7,2 %) and zoophagous (3,7 %).

Keywords: mesofauna, ecomorphes, reclamation.

References

1. Lavelle P., Bignell D., Lepage M. et al. 1997. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of soil biology*, P. 159-193 (1997).
2. Giljarov M. Zoological method of diagnosis of soil. "Nauka" press, 275 p. (1965).
3. Zhukov A., Zhukova V. Ekomorphical specters of the complexes of earthworms in soil zoological diagnosis. *Bulletin Dnepropetrovsk University*, P. 216-221 (1997).
4. Bel'gard A. Forest vegetation of the southeast USSR. Kyiv state University press, 294 p. (1950).
5. Zhukov O. Ekomorphical analysis of consortium of soil animals. «Svidler A.L.» press, 244 p. (2009).
6. Kashkarov D. Environment and Society (basis of sinekology). Medgiz. Press, 244 p. (1933).
7. Bel'gard A., Travleev A. Research of the interaction of vegetation in forest soils biogeocoenoses of the Steppe Ukraine in the light of S. V. Zonne views. DSU Press, P. 5–12 (1980).
8. Bel'gard A. Steppe forestry. Forest industries press, 336 p. (1971).
9. Pokarzhevskij A., Gongal'skij K., Zajcev A., Savin F. Spatial ecology of soil animals. Moscow, 174 p. (2007).
10. Voronov A. Heobotanyka. "Higher School" press, 730 p. (1973).
11. Gural'-Sverlova N., Gural' R. Key of terrestrial mollusks of Ukraine. Lvov, 126 p. (2012).
12. Sokolov D. On the significance of millipede and ants in the transformation of organic matter under conditions of forest plantations in the desert. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists*, 57–76 p. (1957).
13. Prokopenko O., Kunah O., Zhukov O., Pahomov O. Biodiversity of Ukraine. Dnipropetrovsk region. Spiders (Aranei). Dnipropetrovs'k national university press, 340 p. (2010).
14. Homenko V., Chernej L. Darkling beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) of steppe landscapes reserves of Ukraine. *Caucasian Entomol. Bulletin*, 203–209 p. (2009).

Поступила в редакцию 24.04.2014 г.

УДК 577.152.34:612.62:616

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПУХОЛЕВОГО АНТИГЕНА СА 15-3 ПРИ
НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ**

Вовчук И.Л.

*Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина
E-mail: irvov@mail.ru*

В обзоре обобщены данные литературы относительно прогностического и диагностического значения определения содержания антигена СА 15-3 в сыворотке крови при неопластической трансформации в молочной железе. Показано, что повышение эффективности мониторинга больных раком молочной железы с использованием сывороточного опухолевого маркера – антигена СА 15-3 обусловлено необходимостью установления базовых концентрационных параметров данного антигена у конкретных пациенток в начале лечения, в регулярном проведении серийного тестирования, в процессе лечения и при последующем наблюдении.

Для прогнозирования хода заболевания у пациентов с впервые диагностированным раком молочной железы необходимо рассматривать данные о содержании антигена СА 15-3 до операции в сочетании с другими прогностическими факторами.

Ключевые слова: антиген СА 15-3, сыворотка крови, опухоль, молочная железа.

Рак молочной железы является наиболее распространенным среди онкозаболеваний репродуктивных органов [1]. Статистические данные за последние годы свидетельствуют о росте заболеваемости и смертности от рака молочной железы во многих странах [2, 3].

Для ранней диагностики первичной опухоли [4, 5] и ее метастазов, а также мониторинга лучевой и химиотерапии, по мнению большинства исследователей, наиболее совершенным является определение онкомаркеров [4, 6–8]. К таким онкомаркерам относится большая группа факторов, обнаруженных в злокачественных и ассоциируемых с злокачественным ростом клетках. Онкомаркеры являются макромолекулами, в основном белками с углеводным или липидным компонентом. От соединений, которые продуцируются нормальными клетками, они отличаются или качественно (опухолеспецифичные) или количественно (ассоциируемые с опухолью, но присутствуют также и в нормальных клетках). Онкомаркеры формируются внутри или на поверхности опухолевых клеток, или же в результате индукции образуются в других клетках. Часть онкомаркеров секретируется в кровь, благодаря чему их содержимое можно определить с помощью иммуноферментного анализа.

Однако, до сих пор не удалось выявить ни одного специфического серологического диагностикума, способного детектировать только злокачественную опухоль специфического гистологического типа и обнаружить ее локализацию на возможно более ранних этапах формирования [9, 10]. В некоторой степени повысить эффективность диагностики можно, если использовать сочетание разных онкомаркеров [11–13]. Международными организациями рекомендованы для клинических целей несколько эффективных биологических маркеров с высоким уровнем воспроизводимости [6]. К сожалению, до сих пор не охарактеризован ни один опухолевый маркер, который обладает 100 % специфичностью [1, 14].

В связи с этим цель работы состояла в обобщении данных литературы относительно прогностического и диагностического значения исследования уровня антигена СА 15-3 при неопластической трансформации в молочной железе.

Характеристика антигена СА 15-3. Одним из перспективных маркеров рака молочной железы является СА15-3 [4, 6, 7]. Наиболее широкое приложение нашло исследование антигена СА 15-3 при прогнозировании хода заболевания, в мониторинге больных раком молочной железы, для раннего выявления рецидивов и для оценки эффективности лечения.

Карбогидратный антиген (СА 15-3) – высокомолекулярный гликопротеин с молекулярной массой более 300 кДа. В плоде он встречается в эпителиальных клетках бронхов и в гепатоцитах, а у взрослых - является поверхностным антигеном эпителия проток молочной железы [15–22].

На первой и второй стадии развития рака молочной железы повышение уровня этого маркера наблюдается, по данным разных авторов: только в 20 % [23–25], 40 % [10] ил 69% пациенток [21]. Некоторые исследования указывают на высокую корреляцию уровня маркера с размерами опухоли, гистологическим типом опухоли [10, 12] и ответом на лечение [9, 26, 27].

Кроме того, некоторые исследователи указывают на возможность использования показателей антигена СА 15-3 для дифференциальной диагностики между доброкачественными и злокачественными новообразованиями молочной железы и подчеркивают, что высокое содержание антигена СА 15-3 положительно коррелирует с прогрессией и рецидивностью заболевания [12].

Исследования последних лет показали, что для диагноза рака молочной железы желателно использовать вместе с СА 15-3 еще один маркер - ЕМА– 6 (Epithelial membrane antigen), который имеет большую чувствительность и специфичность железы [28, 29]. Повышенный уровень этого маркера наблюдается приблизительно у 87 % женщин с метастазирующим раком молочной железы [7, 8], а рецидив сопровождается значительным повышением уровня задолго до клинических проявлений [8,12, 17, 22].

Для улучшения диагностики рака молочной железы (для повышения чувствительности и специфичности) и в мониторинге хода заболевания лучше использовать соединенное определение нескольких опухолевых маркеров [10, 29]. Второстепенные и вспомогательные маркеры: СА 125 [15, 17], СА 19-9 [15, 17, 30], ПСА (специфический антиген простаты) [31], ХГЧ (хорионический гонадотропин человека) [6], альфа-фетопротеин (АФП, AFP) [6], раково-эмбриональный антиген

(РЭА)[16, 17, 31–33], Цифра 21-1 (Cyfra 21-1), СЕА (карциномо-эмбриональный антиген) [17].

Чувствительность иммуноферментного метода определения антигена СА 15-3. Значение отдельных опухолевых маркеров нельзя переоценивать, поскольку они являются лишь дополнительным диагностическим методом [4, 34].

Следует учитывать, что уровни маркеров могут быть повышены у людей с изменениями, не связанными со злокачественными новообразованиями. Уровень онкомаркеров при начальных стадиях развития опухоли может быть в пределах нормы, невзирая на наличие злокачественной опухоли [21, 23, 25]. Именно поэтому рекомендуется комплексное определение маркеров в сочетании с основными методами диагностики.

Повышение содержания онкомаркеров также может свидетельствовать и об обратном процессе в случае, если проводится успешное лечение, которое приводит к редукции размеров опухоли [27]. Поскольку часть онкомаркеров секретируется в кровь, то их концентрацию обычно определяют с помощью иммуноферментного анализа [4, 6, 9].

В настоящее время измерение уровней опухолевых маркеров широко используется в диагностике, лечении и при наблюдении состояния онкологических больных [4, 29]. Известно, что повышенный уровень СА 15-3 наблюдается чаще при распространенном опухолевом процессе в молочной железе, то есть этот опухолевый маркер представляется стадиейспецифичным. По данным некоторых авторов, повышение уровня СА 15-3 коррелирует не только со стадией процесса (а именно, с размером опухоли и вовлечением в процесс регионарных лимфатических узлов), но и со степенью дифференцировки и злокачественности. Достаточно низкая чувствительность метода на ранних стадиях рака молочной железы не дает возможности использовать его для скрининга с целью ранней диагностики.

Более широкое применение СА 15-3 нашел в первую очередь при прогнозировании протекания заболевания, в мониторинге больных раком молочной железы и для раннего выявления субклинических рецидивов. Так, безрецидивный период наблюдается менее чем у половины больных с высоким начальным уровнем СА 15-3 (больше 30,0 ед/мл). Показано, что больные раком молочной железы с повышенным уровнем СА 15-3 (более 30 ед/мл) имеют меньшую и среднюю продолжительность жизни, по сравнению с пациентками с начальным уровнем СА 15-3 менее 30 ед/мл. Считается, что повышенный начальный уровень СА 15-3 может служить аргументом для назначения адъювантного лечения у радикально оперируемых больных. Уровень СА 15-3 зависит от дня месячного цикла у менструирующих женщин, длительности менопаузы или нахождения в состоянии перименопаузы. Такие абсолютно разные заболевания как эндометриоз, особенно в варианте внешнего эндометриоза и панкреатит (как острый, так и хронический) нередко сопровождаются высокими значениями уровня СА 15-3.

Уровень онкомаркеров оценивается с двух позиций: относительно референсных пределов, и в динамике, то есть по сравнению с предыдущим уровнем (при

онкологической патологии в большинстве числе случаев уровень маркера увеличивается достаточно быстро и значительно) [22, 35].

Для маркеров могут выделяться несколько уровней: в пределах референсного диапазона; повышенный (часто при не онкологической патологии); высокий (возможна онкологическая патология) [10]; очень высокий (возможность метастазов) [7, 8]. Верхняя граница нормы (дискриминационный уровень) антигена у здоровых небеременных женщин составляет 30 ед/мл. Средний уровень антигена СА 15-3 у здоровых женщин составляет $13,37 \pm 6,5$ ед/мл. Физиологичное повышение уровня антигена СА 15-3 возможно в III триместре беременности. Антиген СА 15-3 характеризуется высокой специфичностью относительно рака молочной железы. Лишь в очень частных случаях при мастопатии или доброкачественных опухолях молочной железы уровень антигена может повышаться до 40 ед/мл; средняя концентрация антигена при этом составляет $16,75 \pm 8,43$ ед/мл, что лишь на 3 ед/мл превышает его средний уровень у здоровых женщин [22, 29].

Для первичных больных раком молочной железы установлен широкий диапазон значений диагностической чувствительности определения антигена СА 15-3 при его специфичности - 84,9-95 %: от 19,3% [5] до 69 % [21]. Такой разброс данных относительно чувствительности определения антигена СА 15-3, вероятно, связан в первую очередь с неоднородностью выборок по стадиям процесса у больных в разных исследованиях [25, 29]. Однако по данным других авторов, повышение уровня антигена положительно коррелирует со стадией развития опухоли [7, 12, 21].

Установлена высокая чувствительность (90-94%) определения антигена СА 15-3 при выявлении рецидивов [12] рака молочной железы и при наличии отдаленных метастазов [7, 8]. Повышенное содержание антигена у больных с позитивными данными остеосцинтиграфии подтверждает диагноз метастатического поражения скелета [7, 8]. В то же время установлена низкая чувствительность маркера при наличии 1-2 метастазов в скелете. Значительное повышение содержания антигена у таких больных чаще всего свидетельствует также о наличии и висцеральных метастазов (среднее значение содержания антигена у больных с костными метастазами составляет 125,8 ед/мл, а у больных с костными и висцеральными метастазами - 420,5 ед/мл) [8].

Содержание антигена СА 15-3 негативно коррелирует с возрастом женщин, больных, раком молочной железы [10, 36, 37]. Так, в 2012 году Begum и проч., показали, что у женщин в пре- и постменопаузе, которые имели злокачественные новообразования в молочной железе, содержание антигена в сыворотке крови достоверно (более чем в 2,0 раза) выше критического значения [38].

Правильная интерпретация результата анализа онкомаркеров возможна при соблюдении всех методических условий, а также на основании изучения динамики развития заболевания у каждого конкретного пациента. Начальной стадией исследования является определение пограничного значения между доброкачественной и злокачественной опухолью, а так же между ремиссией и рецидивом [12, 25, 29]. Оптимальным является проведение такого количества

измерений, которое позволяет определить собственные значения уровней для каждого диагноза и для отдельных клинических состояний [6].

Использование онкомаркера СА 15-3. Исследование уровня антигена СА 15-3 применяется для скрининга, оценки эффективности терапии, прогнозирования и длительного наблюдения с целью раннего выявления рецидивов и генерализации заболевания.

При длительном наблюдении пациентов решающим является не абсолютный показатель содержания маркера, а динамика его изменения [15–20]. При регулярном исследовании можно определить прогресс болезни за 4 - 6 месяцев до регистрации метастазов другими известными диагностическими методами [7, 8]. Динамика и содержание антигена изменяются в зависимости от клинического этапа лечения [36]. Наиболее обоснованным и целесообразным является использование этого метода при диспансеризации (III клиническая группа). Согласно рекомендаций ВООЗ исследования проводят в первый год наблюдения 1 раз в месяц, во 2-й год - 1 раз в два месяца, в 3-й год, и в дальнейшем - 1 раз в три месяца [6]. Именно поэтому рекомендуется комплексное определение маркеров и использование основных методов диагностики [4, 22, 23, 39]. Поэтому онкомаркеры используют в качестве дополнения к гистологической диагностике, контролю терапии, прогнозирования рецидива опухоли [12], поиска первичного рака [5, 10] и при первичном выявлении метастазов [6–8].

В настоящее время наиболее важным клиническим использованием определения антигена СА 15-3 является мониторинговая терапия пациентов с распространенным раком молочной железы. Для прогнозирования хода заболевания у пациентов с впервые диагностированным раком молочной железы необходимо рассматривать данные о содержании антигена до операции в сочетании с другими прогностическими факторами [4, 7, 22, 27, 29, 35].

Уровень опухолевых маркеров учитывают также при решении вопроса о прекращении или продолжении консервативной терапии больных [4, 40].

Даже после самих ранних и радикальных операций нередко наблюдаются рецидивы [12] и метастазы [7, 8, 27]. Скорость роста содержания опухолевого маркера обычно позволяет делать вывод о наличии и природе развития заболевания, в частности, о метастазировании [4, 7]. При регулярном наблюдении за содержанием маркеров, информативных для опухоли конкретной локализации, можно обнаружить метастазы за 4-6 месяцев до их клинического выявления [8]. В процессе лечения или после операции [13] отсутствие снижения содержания опухолевых маркеров означает неэффективность выбранного способа лечения (нерадикальность операции). Отклонение содержания одного или больше маркеров опухолевого роста отмечены у 80-90 % больных, однако, из-за гетерогенности морфологической и гистохимической структуры опухолей необходим индивидуальный подход к выбору продуцируемых опухолью маркеров [7]. Согласно ВООЗ рекомендованные интервалы взятия проб для анализа: 1 раз в месяц на протяжении первого года после лечения, 1 раз в 2 месяца на протяжении второго года после лечения, 1 раз в 3 месяца на протяжении третьего года наблюдения [36]. В этих случаях снижение содержания в крови маркеров при изначально

повышенном их содержании до лечения - благоприятный показатель [10]. Опухолевые маркеры открывают новые возможности в лечении онкологических заболеваний: они позволяют дифференцировать злокачественные и доброкачественные опухоли, определять стадию заболевания и главное – своевременно обнаруживать рецидив [6, 12, 22]. Поэтому определение этих маркеров играет важную роль для диагностики, прогнозирования заболевания и контроля за ходом лечения [4, 7, 29, 31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных литературы позволяет констатировать, что повышение эффективности мониторинга больных раком молочной железы с использованием сывороточного опухолевого маркера – антигена СА 15-3 обусловлено необходимостью установления базовых концентрационных параметров данного антигена у конкретных пациенток в начале лечения, в регулярном проведении серийного тестирования, в процессе лечения и при последующем наблюдении.

Для прогнозирования хода заболевания у пациентов с впервые диагностированным раком молочной железы необходимо рассматривать данные о содержании антигена СА 15-3 до операции в сочетании с другими прогностическими факторами.

Список литературы

1. Гриневич Ю.А., Каменец Л.Л., Билинский Б.Т. Иммунологические аспекты предрака и рака молочной железы / Гриневич Ю.А., Каменец Л.Л., Билинский Б.Т. – К.: Медицина, 1990. – 250 с.
2. Кушменский Н.Е. Возможности, неудачи и перспективы исследования опухолевых маркеров в клинике / Н.Е. Кушменский // Клиническая и лабораторная диагностика. – 1999. — № 3. – С. 25 – 32.
3. Хайленко В.А., Комов Д.В., Богатырев В.Н. Диагностика рака молочной железы. М.: МНА, 2005. – С. 7–8.
4. Agrawal A.K. The importance of preoperative elevated serum levels of CEA and CA15-3 in patients with breast cancer in predicting its histological type / A.K. Agrawal, M. Jelen, J. Rudnicki, Z. Grzebieniak, D. Zysko, W. Kielan, J. Slonina, G. Marek // Folia Histochem Cytobiol. – 2010. – 48, № 1. – P. 26-29.
5. Aksu G. Correlation between c-erbB2 expression, lymphovascular invasion and other biological and clinical prognostic factors and preoperative tumor markers in patients with early-stage and locally advanced breast cancer / G. Aksu, C. Duman, Y. Gurbuz, C. Ercin, Z. Canturk, Z. Utkan, M. Dulger // J BUON. – 2011. – V. 16, № 1. – P. 52-57.
6. Ali H.Q. The value of CA15-3 in diagnosis, prognosis and treatment response in women with breast cancer / Ali H.Q., Mahdi N.K., Al-Jowher M.H. // J Pak Med Assoc. – 2013. – V. 63, № 9. – P. 1138-1141.
7. Atoum M. Relationships among serum CA15-3 tumor marker, TNM staging, and estrogen and progesterone receptor expression in benign and malignant breast lesions / M. Atoum, N. Nimer, S. Abdeldayem, H. Nasr // Asian Pac J Cancer Prev. – 2012. – V. 13, № 3. – P. 857-860.
8. Bahrami A. Serial tumour markers serum carcinoembryonic antigen and cancer antigen 15-3 assays in detecting symptomatic metastasis in breast cancer patients / A. Bahrami, M. R. Mortazavizadeh, M. F. Yazdi, M. Chamani // East Mediterr Health J. – 2012. – V. 18, № 10. – P. 1055-1059.
9. Begum M. CA 15-3 (Mucin-1) and physiological characteristics of breast cancer from Lahore, Pakistan / M. Begum, S. Karim, A. Malik, R. Khurshid, M. Asif, A. Salim, S.A. Nagra, A. Zaheer, Z. Iqbal, A.M. Abuzenadah, M.H. Alqahtani, M. Rasool // Asian Pac J Cancer Prev. – 2012. – V. 13, № 10. – P. 5257-5261.
10. Berek J.S. Ovarian cancer screening. The use of serial complementary tumor markers to improve sensitivity and specificity for early detection / J.S. Berek, R. C. Jr. Bast // Cancer. – 1995. – V. 15, № 76. – P. 2092 - 2096.

11. Bidard F. C. Assessment of circulating tumor cells and serum markers for progression-free survival prediction in metastatic breast cancer: a prospective observational study / F. C. Bidard, D. Hajage, T. Bachelot, S. Delaloge, E. Brain, M. Campone, P. Cottu, P. Beuzeboc, E. Rolland, C. Mathiot, J.Y. Pierga // *Breast Cancer Res.* – 2012. – V. 14, № 1. – R 29.
12. Bidard F.C. Translating metastasis-related biomarkers to the clinic-progress and pitfalls / F.C. Bidard, J.Y. Pierga, J.C. Soria, J.P. Thiery // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2013. – V. 10, № 3. – P. 169-179.
13. Bidart J. M. Kinetics of serum tumor marker concentrations and usefulness in clinical monitoring / J.M. Bidart, F. Thuillier, C. Augereau, J. Chalas, A. Daver, N. Jacob, F. Labrousse, H. Voitot // *Clin Chem.* – 1999. – V. 45, № 10. – P. 1695-1707.
14. Biljan M. Statistical learning confirms the diagnostic significance of the anemia panel in breast cancer / M. Biljan, B. Dmitrović, J. Kristek, A.M. Šimundić, S. Mandić, V. Šerić, D. Margaretić, Ž. Debeljak // *Clin Chem Lab Med.* – 2012. – V. 50, № 9. – P. 1671-1678.
15. Bornhak S. Symptom-oriented follow-up of early breast cancer compared to intensive surveillance. Results of a prospective multicentre study: update and 10-year overall survival / S. Bornhak, E. Heidemann, C. Meisner, H.J. Herschlein, W. Simon, E. Merkle, B. Schmidt, H. Metzger, S. Rössle, F. Brinkmann // *Dtsch Med Wochenschr.* – 2012. – V. 137, № 42. – P. 2142-2148.
16. Bölke E. Gene expression of circulating tumour cells and its correlation with tumour stage in breast cancer patients / E. Bölke, K. Orth, P.A. Gerber, G. Lammering, R. Mota, M. Peiper, C. Matuschek, W. Budach, E. Rusnak, S. Shaikh, B. Dogan, H.B. Prissack, H. Bojar // *Eur J Med Res.* – 2009. – V. 14, № 8. – P. 359-363.
17. Cerná M. IGF1 and tumor markers in different breast cancer stages / M. Cerná, A. Narsanská, V. Treska, R. Kucera, O. Topolcan // *Rozhl Chir.* – 2011. – V. 90, № 12. – P. 688-694.
18. Christenson R.H. Analytical performance and clinical concordance of the cancer biomarkers CA 15-3, CA 19-9, CA 125 II, Carcinoembryonic Antigen, and Alpha-Fetoprotein on the Dimension Vista System / R.H. Christenson, D.R. Cervelli, J. Sterner, L.M. Bachmann, H. Rebeck, J. Gray, W.E. Kelley // *Clin Biochem.* – 2011. – V. 44, № 13. – P. 1128-1136.
19. Dalamaga M. Could serum visfatin be a potential biomarker for postmenopausal breast cancer? / M. Dalamaga, S. Archondakis, G. Sotiropoulos, R. Karmaniolas, N. Pelekanos, E. Papadavid, A. Lekka // *Maturitas.* – 2012. – V. 71, № 3. – P. 301-308.
20. Di Gioia D. Kinetics of CEA and CA15-3 correlate with treatment response in patients undergoing chemotherapy for metastatic breast cancer (MBC) / D. Di Gioia, V. Heinemann, D. Nagel, M. Untch, S. Kahlert, I. Bauerfeind, T. Koehnke, P. Stieber // *Tumour Biol.* – 2011. – V. 32, № 4. – P. 777-785.
21. Elfagieh M. Serum tumour markers as a diagnostic and prognostic tool in Libyan breast cancer / M. Elfagieh, F. Abdalla, A. Gliwan, J. Boder, W. Nichols, A. Buhmeida // *Tumour Biol.* – 2012. – V. 33, № 6. – P. 2371-2377.
22. El-Mezayen H.A. Development of a novel metastatic breast cancer score based on hyaluronic acid metabolism / H.A. El-Mezayen, el-S.A. Toson, H. Darwish, F.M. Metwally // *Med Oncol.* – 2013. – V. 30, № 1. – P. 404 - 408.
23. Ercan S. Serum concentrations of CA 125, CA 15-3, CA 19-9 and CEA in normal pregnancy: a longitudinal study / S. Ercan, O. Kaymaz, I.N. Yücel, A. Orçun // *Arch Gynecol Obstet.* – 2012. – V. 285, № 3. – P. 579-584.
24. Gendler S.J. Epithelial mucin genes / S.J. Gendler, A.P. Spicer // *Ann. Rev. Physiol.* – 1995. – V. 57. – P. 607 - 634.
25. Ghadge M.S. Comparative Study of Bone Scan Findings and Serum Levels of Tumor Marker CA15-3 in Patients with Breast Carcinoma / M.S. Ghadge, P.P. Naik, B.P. Tiwari, R.M. Hegde, T.J. Matala // *Indian J Clin Biochem.* – 2012. – V. 27, № 1. – P. 97-99.
26. Chen Y. Clinical and prognostic significance of preoperative serum CA153, CEA and TPS levels in patients with primary breast cancer / Y. Chen, Y.H. Zheng, Y.Y. Lin, M.H. Hu, Y.S. Chen // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* – 2011. – V. 33, № 11. – P. 842-846.
27. González-Sistal A. CA 15-3 serum levels in patients with ductal breast carcinoma: relationship with clinicopathological parameters and tumor markers / A. González-Sistal, J.I. Arias, A. Ruibal // *Int J Biol Markers.* – 2011. – V. 27, 1. – P. 47-52.
28. Hashim Z.M. The significance of CA15-3 in breast cancer patients and its relationship to HER-2 receptor status / Z.M. Hashim // *Int J Immunopathol Pharmacol.* – 2014. – V. 27, № 1. – P. 45-51.

29. Huang H.M. Expression of mucin regulated by recombinant human interleukin-6 in HT-29 cell of colon cancer / H.M. Huang, A.J. Chen // *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. – 2011. – V. 14, № 11. – P. 899-902.
30. Klinge C.M. Targeting the intracellular MUC1 C-terminal domain inhibits proliferation and estrogen receptor transcriptional activity in lung adenocarcinoma cells / C.M. Klinge, B.N. Radde, Y. Imbert-Fernandez, Y. Teng, M.M. Ivanova, S.M. Abner, A.L. Martin // *Mol Cancer Ther*. – 2011. – V. 10, № 11. – P. 2062-2071.
31. Kos T. Variations in tumor marker levels in metastatic breast cancer patients according to tumor subtypes / T. Kos, S. Aksoy, M.A. Sendur, Z. Arik, B. Civelek, N. Kandemir, N.Y. Ozdemir, N. Zengin, K. Altundag // *J BUON*. – 2013. – V. 18, № 3. – P. 608-613.
32. Kruit A. CA 15-3 as an alternative marker for KL-6 in fibrotic lung diseases / A. Kruit, W.B. Gerritsen, N. Pot, J.C. Grutters, J.M. van den Bosch, H.J. Ruven // *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. – 2010. – V. 27, № 2. – P. 138-146.
33. Kufe D.W. MUC1-C oncoprotein as a target in breast cancer: activation of signaling pathways and therapeutic approaches / D.W. Kufe // *Oncogene*. – 2013. – V. 32, № 9. – P. 1073-1081.
34. Ławicki S. The plasma levels and diagnostic utility of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) and granulocyte-macrophage - colony stimulating factor (GM-CSF) in patients with I and II stage of breast cancer / S. Ławicki, M. Czygier, M. Wojtukiewicz, M. Szmitkowski // *Przegl Lek*. – 2009. – V. 66, № 7. – P. 365-369.
35. Leth-Larsen R. Functional heterogeneity within the CD44 high human breast cancer stem cell-like compartment reveals a gene signature predictive of distant metastasis / R. Leth-Larsen, M.G. Terp, A.G. Christensen, D. Elias, T. Kühlwein, O.N. Jensen, O.W. Petersen, H.J. Ditzel // *Mol Med*. – 2012. – V. 25, № 18. – P.1109-1121.
36. Li H. Electrochemical immunosensor with N-doped graphene-modified electrode for label-free detection of the breast cancer biomarker CA 15-3 / H. Li, J. He, S. Li, A.P. Turner // *Biosens Bioelectron*. – 2012. – V. 6, № 43. – P. 25-29.
37. Marić P. Tumor markers in breast cancer—evaluation of their clinical usefulness / P. Marić, P. Ozretić, S. Levanat, S. Oresković, K. Antunac, L. Beketić-Oresković // *Coll Antropol*. – 2011. – V. 35, № 1. – P. 241-247.
38. Nisman B. The prognostic significance of LIAISON(R) CA15-3 assay in primary breast cancer / B. Nisman, O. Maimon, T. Allweis, L. Kadouri, B. Maly, T/ Hamburger, T. Peretz // *Anticancer Res*. – 2013. – V. 33, № 1. – P. 293-299.
39. Opstal-van Winden A.W. A bead-based multiplexed immunoassay to evaluate breast cancer biomarkers for early detection in prediagnostic serum / A.W. Opstal-van Winden, W. Rodenburg, J.L. Pennings, C.T. van Oostrom, J.H. Beijnen, P.H. Peeters, C.H. van Gils, A. de Vries // *Int J Mol Sci*. – 2012. – V. 13, № 10. – P. 13587-13604.
40. Park S. S. Of Different CA 15-3 Levels according to Breast Cancer Subtype at Initial Diagnosis of Recurrent or Metastatic Breast Cancer / S.S. Park, H.K. Ahn, L.C. Park, D.W. Hwang, J.H. Ji, C.H. Maeng, S.H. Cho, J.Y. Lee, K.T. Park, J.S. Ahn, Y.H. Park, Y.H. Im // *Oncology* – 2012. – V. 82, № 3. – P. 180-187.
41. Porika M. Evaluation of tumor markers in southern Indian breast cancer patients / M. Porika, N. Malotu, U.K. Veldandi, N. Yadala, S. Abbagani // *Asian Pac J Cancer Prev*. – 2010. V. 11, № 1. – P. 157-159.
42. Sahraei M. MUC1 regulates PDGFA expression during pancreatic cancer progression / M. Sahraei, L.D. Roy, J.M. Curry, T.L. Teresa, S. Nath, D. Besmer, F. Kidiyoor, R. Dalia, S.J. Gendler, P. Mukherjee // *Oncogene*. – 2012. – V. 31, № 47. – P. 4935-4945.
43. Sandri M.T. Prognostic role of CA15.3 in 7942 patients with operable breast cancer / M.T. Sandri, M. Salvatici, E. Botteri, R. Passerini, L. Zorzino, N. Rotmensz, A. Luini, C. Mauro, V. Bagnardi, M.C. Cassatella, F. Bottari, C. Casadio, M. Colleoni // *Breast Cancer Res Treat*. – 2012. – V. 132, № 1. – P. 317-326.
44. Sarkar D.K. Is immediate postoperative CA15.3 assay a predictive marker of early postoperative recurrence of carcinoma breast? / D.K. Sarkar, N. Panda, S. Biswas, M.L. Saha, A. Majumder // *J Indian Med Assoc*. – 2012. – V. 110, № 3. – P. 146-147.
45. Wei W. Electrochemiluminescent detection of Mucin 1 protein and MCF-7 cancer cells based on the resonance energy transfer / W. Wei, D.F. Li, X.H. Pan, S.Q. Liu // *Analyst*. – 2012. – V. 137, № 9. – P. 2101-2106.

46. Zakrzewska I. Significance of some tumor markers in differential diagnosis of ovarian tumor / I. Zakrzewska, R. Borawska, J. Poznański, B. Maćkowiak // Roczn. Akad. Med. Białymst. – 1999. – № 44. – P. 235 - 243.
47. Zhang S.J. Expression and significance of ER, PR, VEGF, CA15-3, CA125 and CEA in judging the prognosis of breast cancer / S.J. Zhang, Y. Hu, H.L. Qian, S.C. Jiao, Z.F. Liu, H.T. Tao, L. Han // Asian Pac J Cancer Prev. – 2013. – V. 14, № 6. – P. 3937-3940.

Вовчук І.Л. Прогностичне і діагностичне значення визначення пухлинного антигену СА 15-3 при неопластичній трансформації в молочній залозі / І.Л. Вовчук // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 21-32.

В огляді узагальнені дані літератури відносно прогностичного і діагностичного значення визначення вмісту антигену СА 15-3 в сироватці крові при неопластичній трансформації в молочній залозі. Показано, що підвищення ефективності моніторингу хворих на рак молочної залози з використанням сироваткового пухлинного маркера – антигена СА 15-3 обумовлено необхідністю встановлення базових концентраційних параметрів даного антигена у конкретних пацієнток на початку лікування, в регулярному проведенні серійного тестування, в процесі лікування і при подальшому спостереженні. Для прогнозування ходу захворювання у пацієнтів з вперше діагностованим раком молочної залози необхідно розглядати дані про вміст антигена СА 15-3 до операції у поєднанні з іншими прогностичними чинниками.

Ключові слова: антиген СА 15-3, сироватка крові, пухлина, молочна залоза.

PROGNOSTIC AND DIAGNOSTIC VALUE OF DETERMINATION OF ANTIGEN CA 15-3 DURING NEOPLASTIC TRANSFORMATION IN BREAST

Vovchuk I.L.

*Odessa National University of I.I. Mechnikov, Odessa, Ukraine
E-mail: irvov@mail.ru*

In a review these literatures are generalized in relation to the prognostic and diagnostic value of determination of maintenance of antigen of CA 15-3 in the whey of blood during neoplastic transformation in breast.

Until now it was not succeeded to expose not a single specific serum diagnosticum, able rectifying only the malignant tumor of specific histological type and to find out its localization on possibly more early stages of forming.

Aught promoting efficiency of diagnostics is possible, if to use combination of different of oncologic markers. International organizations are recommend for clinical aims a few effective biological markers with high an urovenem producibility. Unfortunately, not a single tumor marker which possesses 100 % is until now described by specificity.

From data of some authors, the increase of level of CA 15-3 correlates not only with the stage of process (namely, with the size of tumor and engaging in the process of regional lymphatic knots) and also with the degree of differentiation and malignization.

Low enough test-sensitivity on the early stages of shrine of suckling gland does not enable to use him for skrinig with the purpose of early diagnostics. It is rotined that patients with cancer of breast with the enhanceable level of CA 15-3 (more than 30 U/ml) is have less

and middle life-span, as compared to patients with the initial level of CA 15-3 less than 30 U/ml. The high bound of norm (discriminatory level) of antigen for healthy unpregnant women makes 30 U/ml. The middle level of antigen of CA 15-3 for healthy women makes $13,37 \pm 6,5$ U/ml.

The high sensitiveness (90-94%) of determination of antigen of CA 15-3 is set at the exposure of relapses of shrine of breast and at presence of remote metastases. Enhanceable maintenance of antigen for patients with positive information of osteoscintigrafic confirms the diagnosis of metastatic defect of skeleton. The table of contents of antigen of CA 15-3 negatively correlates with age of women.

It is rotined that increase of efficiency of monitoring of patients by the cancer of suckling gland with the use of tumor marker – antigen of CA 15-3 contingently the necessity of establishment of base concentration parameters of this antigen for concrete patients at the beginning of treatment, in the regular leadthrough of the serial testing, in the process of treatment and at a subsequent supervision.

For prognostication of motion of disease for patients with the first diagnosed cancer of breast it is necessary to examine information about maintenance of antigen of SA 15-3 to the operation in combination with other prognostic factors.

Keywords: antigen CA 15-3, whey of blood, tumor, breast.

References

1. Grinevich Yu.A., Kamenec L.L., Bilinskiy B.T. *The Immunological aspects of predraka and shrine of suckling gland*, 250 p., (Kiev, 1990).
2. Kushmenskiy N.E. Possibilities, failures and prospects research of tumour markers in a clinic, *Clinical and laboratory diagnostics.*, 3, 25 (1999).
3. Khaylenko V.A., Komov D.V., Bogatyrev V.N. *Diagnostics of shrine of suckling gland*, 240 p., (Moscow, 2005).
4. Agrawal A.K., Jelen M., Rudnicki J., Grzebieniak Z., Zyško D., Kielan W., Słonina J., Marek G. The importance of preoperative elevated serum levels of CEA and CA15-3 in patients with breast cancer in predicting its histological type, *Folia Histochem Cytobiol.*, **48**, 26 (2010).
5. Aksu G., Duman C., Gurbuz Y., Ercin C., Canturk Z., Utkan Z, Dulger M. Correlation between c-erbB2 expression, lymphovascular invasion and other biological and clinical prognostic factors and preoperative tumor markers in patients with early-stage and locally advanced breast cancer, *J BUON.*, **16**, 52 (2011).
6. Ali H.Q., Mahdi N.K., Al-Jowher M.H. The value of CA15-3 in diagnosis, prognosis and treatment response in women with breast cancer, *J Pak Med Assoc.*, **63**, 1138 (2013).
7. Atoum M., Nimer N., Abdeldayem S., Nasr H. Relationships among serum CA15-3 tumor marker, TNM staging, and estrogen and progesterone receptor expression in benign and malignant breast lesions, *Asian Pac J Cancer Prev*, **13**, 857 (2012).
8. Bahrami A., Mortazavizadeh M.R., Yazdi M.F., Chamani M. Serial tumour markers serum carcinoembryonic antigen and cancer antigen 15-3 assays in detecting symptomatic metastasis in breast cancer patients, *East Mediterr Health J.*, **18**, 1055 (2012).
9. Begum M., Karim S., Malik A., Khurshid R., Asif M., Salim A., Nagra S.A., Zaheer A., Iqbal Z., Abuzenadah A.M., Alqahtani M.H., Rasool M. CA 15-3 (Mucin-1) and physiological characteristics of breast cancer from Lahore, Pakistan, *Asian Pac J Cancer Prev.*, **13**, 5257 (2012).
10. Berek J.S., Bast R.C.Jr. Ovarian cancer screening. The use of serial complementary tumor markers to improve sensitivity and specificity for early detection, *Cancer.*, **15**, 2092 (1995).
11. Bidard F. C., Hajage D., Bachelot T., Delalogue S., Brain E., Campone M., Cottu P., Beuzeboc P., Rolland E., Mathiot C., Pierga J.Y. Assessment of circulating tumor cells and serum markers for progression-free survival prediction in metastatic breast cancer: a prospective observational study, *Breast Cancer Res.*, **14**, 29 (2012).

12. Bidard F.C., Pierga J.Y., Soria J.C., Thiery J.P. Translating metastasis-related biomarkers to the clinic-progress and pitfalls, *Nat Rev Clin Oncol.*, **10**, 169 (2013).
13. Bidart J. M., Thuillier F., Augereau C., Chalas J., Daver A., Jacob N., Labrousse F., Voitot H. Kinetics of serum tumor marker concentrations and usefulness in clinical monitoring, *Clin Chem.*, **45**, 1695 (1999).
14. Biljan M., Dmitrović B., Kristek J., Šimundić A.M., Mandić S., Šerić .V, Margaretić D., Debeljak Ž. Statistical learning confirms the diagnostic significance of the anemia panel in breast cancer, *Clin Chem Lab Med.*, **50**, 1671 (2012).
15. Bornhak S., Heidemann E., Meisner C., Herschlein H.J., Simon W., Merkle E., Schmidt B., Metzger H., Rössle S., Brinkmann F. Symptom-oriented follow-up of early breast cancer compared to intensive surveillance. Results of a prospective multicentre study: update and 10-year overall survival, *Dtsch Med Wochenschr.*, **137**, 2142 (2012).
16. Bölke E., Orth K., Gerber P.A., Lammering G., Mota R., Peiper M., Matuschek C., Budach W., Rusnak E., Shaikh S., Dogan B., Prisack H.B., Bojar H. Gene expression of circulating tumour cells and its correlation with tumour stage in breast cancer patients, *Eur J Med Res.*, **14**, 359 (2009).
17. Cerná M., Narsanská A., Treska V., Kucera R., Topolcan O. IGF1 and tumor markers in different breast cancer stages, *Rozhl Chir.*, **90**, 688 (2011).
18. Christenson R.H., Cervelli D.R., Sterner J., Bachmann L.M., Rebuck H., Gray J., Kelley W.E. Analytical performance and clinical concordance of the cancer biomarkers CA 15-3, CA 19-9, CA 125 II, Carcinoembryonic Antigen, and Alpha-Fetoprotein on the Dimension Vista System, *Clin Biochem.*, **44**, 1128 (2011).
19. Dalamaga M., Archondakis S., Sotiropoulos G., Karmaniolas K., Pelekanos N., Papadavid E., Lekka A. Could serum visfatin be a potential biomarker for postmenopausal breast cancer?, *Maturitas.*, **71**, 301 (2012).
20. Di Gioia D., Heinemann V., Nagel D., Untch M., Kahlert S., Bauerfeind I., Koehnke T., Stieber P. Kinetics of CEA and CA15-3 correlate with treatment response in patients undergoing chemotherapy for metastatic breast cancer (MBC), *Tumour Biol.*, **32**, 777 (2011).
21. Elfagieh M., Abdalla F., Gliwan A., Boder J., Nichols W., Buhmeida A. Serum tumour markers as a diagnostic and prognostic tool in Libyan breast cancer, *Tumour Biol.*, **33**, 2371 (2012).
22. El-Mezayen H.A., Toson el-S.A., Darwish H., Metwally F.M. Development of a novel metastatic breast cancer score based on hyaluronic acid metabolism, *Med Oncol.*, **30**, 404 (2013).
23. Ercan S., Kaymaz O., Yücel I.N., Orçun A. Serum concentrations of CA 125, CA 15-3, CA 19-9 and CEA in normal pregnancy: a longitudinal study, *Arch Gynecol Obstet.*, **285**, 579 (2012).
24. Gendler S.J., Spicer A.P. Epithelial mucin genes, *Ann. Rev. Physiol.*, **57**, 607 (1995)
25. Ghadge M.S., Naik P.P., Tiwari B.P., Hegde R.M., Matala T.J. Comparative Study of Bone Scan Findings and Serum Levels of Tumor Marker CA15-3 in Patients with Breast Carcinoma, *Indian J Clin Biochem.*, **27**, 97 (2012).
26. Chen Y., Zheng Y.H., Lin Y.Y., Hu M.H., Chen Y.S. Clinical and prognostic significance of preoperative serum CA153, CEA and TPS levels in patients with primary breast cancer, *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.*, **33**, 842 (2011).
27. González-Sistal A., Arias J.I., Ruibal A. CA 15-3 serum levels in patients with ductal breast carcinoma: relationship with clinicopathological parameters and tumor markers, *Int J Biol Markers.*, **27**, 47 (2011).
28. Hashim Z.M. The significance of CA15-3 in breast cancer patients and its relationship to HER-2 receptor status, *Int J Immunopathol Pharmacol.*, **27**, 45 (2014).
29. Huang H.M., Chen A.J. Expression of mucin regulated by recombinant human interleukin-6 in HT-29 cell of colon cancer, *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.*, **14**, 899 (2011).
30. Klinge C.M., Radde B.N., Imbert-Fernandez Y., Teng Y., Ivanova M.M., Abner S.M., Martin A.L. Targeting the intracellular MUC1 C-terminal domain inhibits proliferation and estrogen receptor transcriptional activity in lung adenocarcinoma cells, *Mol Cancer Ther.*, **10**, 2062 (2011).
31. Kos T., Aksoy S., Sendur M.A., Arik Z., Civelek B., Kandemir N., Ozdemir N.Y., Zengin N., Altundag K. Variations in tumor marker levels in metastatic breast cancer patients according to tumor subtypes, *J BUON.*, **18**, 608 (2013).
32. Kruit A., Gerritsen W.B., Pot N., Grutters J.C., van den Bosch J.M., Ruven H.J. CA 15-3 as an alternative marker for KL-6 in fibrotic lung diseases, *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.*, **27**, 138 (2010).

33. Kufe D.W. MUC1-C oncoprotein as a target in breast cancer: activation of signaling pathways and therapeutic approaches, *Oncogene.*, **32**, 1073 (2013).
34. Ławicki S., Czygier M., Wojtukiewicz M., Szmitkowski M. The plasma levels and diagnostic utility of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) and granulocyte-macrophage - colony stimulating factor (GM-CSF) in patients with I and II stage of breast cancer, *Przegl Lek.*, **66**, 365 (2009).
35. Leth-Larsen R., Terp M.G., Christensen A.G., Elias D., Kühlwein T., Jensen O.N., Petersen O.W., Ditzel H.J. Functional heterogeneity within the CD44 high human breast cancer stem cell-like compartment reveals a gene signature predictive of distant metastasis, *Mol Med.*, **25**, 1109 (2012).
36. Li H., He J., Li S., Turner A.P. Electrochemical immunosensor with N-doped graphene-modified electrode for label-free detection of the breast cancer biomarker CA 15-3, *Biosens Bioelectron.*, **6**, 25 (2012).
37. Marić P., Ozretić P., Levanat S., Oresković S., Antunac K., Beketić-Oresković L. Tumor markers in breast cancer--evaluation of their clinical usefulness, *Coll Antropol.*, **35**, 241 (2011).
38. Nisman B., Maimon O., Allweis T., Kadouri L., Maly B., Hamburger T., Peretz T. The prognostic significance of LIAISON(R) CA15-3 assay in primary breast cancer, *Anticancer Res.*, **33**, 293 (2013).
39. Opstal-van Winden A.W., Rodenburg W., Pennings J.L., van Oostrom C.T., Beijnen J.H., Peeters PH., van Gils C.H., de Vries A. A bead-based multiplexed immunoassay to evaluate breast cancer biomarkers for early detection in prediagnostic serum, *Int J Mol Sci.*, **13**, 13587 (2012).
40. Park S. S., Ahn H.K., Park L.C., Hwang D.W., Ji J.H., Maeng C.H., Cho S.H., Lee J.Y., Park K.T., Ahn J.S., Park Y.H., Im Y.H. Of Different CA 15-3 Levels according to Breast Cancer Subtype at Initial Diagnosis of Recurrent or Metastatic Breast Cancer, *Oncology.*, **82**, 180 (2012).
41. Porika M., Malotu N., Veldandi U.K., Yadala N., Abbagani S. Evaluation of tumor markers in southern Indian breast cancer patients, *Asian Pac J Cancer Prev.*, **11**, 157 (2010).
42. Sahraei M., Roy L.D., Curry J.M., Teresa T.L., Nath S., Besmer D., Kidiyoor F., Dalia R., Gendler S.J., Mukherjee P. MUC1 regulates PDGFA expression during pancreatic cancer progression, *Oncogene.*, **31**, 4935 (2012).
43. Sandri M.T., Salvatici M., Botteri E., Passerini R., Zorzino L., Rotmensz N., Luini A., Mauro C., Bagnardi V., Cassatella M. C., Bottari F., Casadio C., Colleoni M. Prognostic role of CA15.3 in 7942 patients with operable breast cancer, *Breast Cancer Res Treat.*, **132**, 317 (2012).
44. Sarkar D.K., Panda N., Biswas S., Saha M.L., Majumder A. Is immediate postoperative CA15.3 assay a predictive marker of early postoperative recurrence of carcinoma breast?, *J Indian Med Assoc.*, **110**, 146 (2012).
45. Wei W., Li D.F., Pan X. H., Liu S.Q. Electrochemiluminescent detection of Mucin 1 protein and MCF-7 cancer cells based on the resonance energy transfer, *Analyst*, **137**, 2101 (2012).
46. Zakrzewska I., Borawska R., Poznański J., Maćkowiak B. Significance of some tumor markers in differential diagnosis of ovarian tumor, *Rocz. Akad. Med. Białymst.*, **44**, 235 (1999).
47. Zhang S.J., Hu Y., Qian H.L., Jiao S.C., Liu Z.F., Tao H.T., Han L. Expression and significance of ER, PR, VEGF, CA15-3, CA125 and CEA in judging the prognosis of breast cancer, *Asian Pac J Cancer Prev.*, **14**, 3937 (2013).

Поступила в редакцию 28.04.2014 г.

УДК 577.112.4

ВЛИЯНИЕ ДЕНАТУРИРУЮЩИХ ГИДРОФОБНЫХ АГЕНТОВ НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ПОДВИЖНОСТЬ ГЕМОГЛОБИНА

Гидулянов А.А.

*Южный филиал национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Республика Крым,
Российская Федерация
E-mail: sgaa@mail.ru*

Проведено сравнительное исследование влияния хлороформа и бензола на электрофоретическую подвижность фракций гемоглобина. В результате исследований получены данные, свидетельствующие об изменении электрофоретической подвижности гемоглобина под влиянием углеводов.

Ключевые слова: гемоглобин, хлороформ, бензол, электрофоретическая подвижность.

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение промышленного производства химических веществ и расширение их ассортимента, связанные с возрастающими потребностями развивающихся технологий, неизбежно влекут за собой усиление вызываемой ими экологической опасности. Исследование токсического влияния ксенобиотиков на организм является актуальной медико-биологической проблемой. Ксенобиотики распространены повсеместно – в окружающей среде, на производстве, в фармации, в бытовой жизни [1, 2]. Более 200 ксенобиотиков окружают современного человека в быту и на производстве. Тем не менее механизмы адаптации организма к их воздействию до настоящего времени изучены недостаточно полно. В частности, это относится к действию ксенобиотиков на систему эритроцита и последствиям этого действия. Решение данных вопросов может представлять научный интерес как для практической, так и для теоретической медицины [1, 2].

Высокая степень антропогенной нагрузки объясняет необходимость разработки подходов, позволяющих выявлять ее последствия еще на начальных этапах воздействия. Это прежде всего должно касаться оценки состояния систем, в первую очередь, реагирующих на загрязнители окружающей среды, что определяется как химической природой токсикантов, так и механизмами их биотрансформации [4, 5]. В настоящее время большое внимание уделяется потенциальной опасности хлорорганических соединений, образующихся на различных этапах очистки и обеззараживания питьевой воды на водопроводных станциях. В наибольших количествах образуется хлороформ, для которого не установлена научно обоснованная ПДК в питьевой воде [6, 7]. Органические вещества широко используются в качестве растворителей. Среди таких веществ – хлороформ и бензол [7, 8].

Проблема влияния хлороформа и бензола на живые организмы в последнее время привлекает все большее внимание. Известны системные и клеточные механизмы токсического действия, однако молекулярные механизмы мало изучены. Нарушения в нормальном функционировании живых организмов заставляют задуматься о механизмах действия указанного фактора, реализующихся на молекулярном и клеточном уровнях и связанных с изменениями структуры биологических молекул, а, следовательно, и с выполняемыми ими функциями [8, 9].

В частности большой интерес представляет выяснение механизмов воздействия низкомолекулярных углеводородов и их галогенпроизводных гидрофобной природы на конформационные переходы биополимеров, осуществляющиеся на молекулярном и клеточном уровне. Выяснение механизма взаимодействия гидрофобных низкомолекулярных веществ с белками требует проведения исследований на белковых моделях с использованием разных веществ гидрофобной природы [10, 11]. В связи с этим целью данной работы было проведение сравнительного анализа влияния хлороформа и бензола на электрофоретическую подвижность гемоглобина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служил гемолизат эритроцитов крови человека, как модельный раствор гемоглобина. Гемолизат получали методом "осмотического шока". После этого в полученный гемолизат добавляли дистиллированную воду до конечной концентрации гемоглобина 0,03% [12]. Раствор белка насыщали бензолом и хлороформом в стеклянных бюксах объемом 5 мл путем наслаивания 3 мл раствора белка на 1,5 мл лиганда с последующей инкубацией образцов при комнатной температуре. Инкубацию образцов проводили в течение 0,5, 1, 6 и 12 часов. Электрофорез проводили в трубочках в 7% ПААГ. Разделение проводили при 250-340В при силе тока 2-5 мА на каждую трубку. Продолжительность разделения составляла 2,5-3 часа [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Низкомолекулярные растворители, к числу которых относится хлороформ и бензол, оказывают сильное денатурирующее действие на биополимеры. Однако в данном исследовании использовали насыщения гемоглобина, при которых медленно устанавливается равновесие в системе хлороформ (бензол) - вода-белок и происходит связывание лигандов гидрофобными участками молекулы белка. Возникает естественный вопрос о том, какое влияние на структуру белка оказывает связывающийся с ним хлороформ и бензол. Поэтому представляется важным оценка влияния углеводородов на структуру молекулы гемоглобина и обратимость действия данных денатурирующих агентов. В связи с этим проведены исследования электрофоретических свойств белка, насыщенного хлороформом и бензолом.

Как видно из таблицы 1 в случае связывания хлороформа с гемоглобином наблюдается достоверное снижение электрофоретической подвижности ($p < 0,05$). Электрофоретическая подвижность первой фракции гемоглобина при взаимодействии с хлороформом по сравнению с нативным гемоглобином

уменьшилась за первые 30 минут на 12,3%, через 1 час продолжила незначительно уменьшаться - на 14,2%, при более длительной, 6 часовой инкубации отмечалось более значительное уменьшение - на 22,7%. Как видно, в случае связывания хлороформа с белком при максимальной, 12-часовой экспозиции 1 фракция подверглась наиболее выраженным изменениям, проявившимся в максимальном снижении ее электрофоретической подвижности - на 44,1%.

Таблица 1

Изменение электрофоретической подвижности гемоглобина под влиянием хлороформа ($M \pm m, R_f$)

Время экспозиции (час)	Фракции	Контрольные образцы	Взаимодействие с хлороформом
0,5	1	0,65±0,05	0,57±0,04
	2	0,57±0,04	0,45±0,03*
	3	0,5±0,06	0,29±0,03*
1	1	0,63±0,06	0,54±0,04
	2	0,53±0,05	0,41±0,04
	3	0,39±0,03	0,22±0,02*
6	1	0,66±0,04	0,51±0,03*
	2	0,57±0,05	0,43±0,03*
	3	0,5±0,05	0,24±0,03*
12	1	0,68±0,05	0,38±0,03*
	2	0,59±0,04	0,47±0,03*
	3	0,52±0,04	0,4±0,03*

Примечание: *- достоверность различий показателей по сравнению с контрольными образцами ($p < 0,05$).

Электрофоретическая подвижность второй фракции гемоглобина при взаимодействии с хлороформом, по сравнению с нативным гемоглобином, уменьшилась после его 30 минутного воздействия - на 21,1%, в 1 час - на 22,6%, при 6 часовом воздействии - на 24,6%, а после 12 часов - на 20,3%. Наиболее подверженной воздействию хлороформа оказалась 3 фракция гемоглобина, чья электрофоретическая подвижность по сравнению с нативным гемоглобином уменьшилась через 30 минут - на 42%, через 1 час - на 43,6%, в 6 часовой период влияния - на 52% и после 12 часовой инкубации - на 23%.

Практически во всех 4 экспозициях в случае связывания хлороформа с гемоглобином наблюдается достоверное снижение электрофоретической подвижности. Во всех поставленных экспериментах при 12-часовой экспозиции происходила денатурация гемоглобина, были видны хлопьяподобные структуры. При анализе электрофоретической подвижности взаимодействия белковых молекул

с хлороформом, т.е. за все время экспозиции, наиболее выраженные изменения электрофоретической подвижности наблюдаются при 6 часовой экспозиции.

Известно, что образование полимеров зависит от дисульфидных мостиков S-S за счет SH-группы. SH-группы, входящие в состав гемоглобина - по одной в α -цепи и по две в β -цепи, играют весьма существенную роль в выполнении основной функции гемоглобина [16]. При взаимодействии лигандов с белком возможно происходит изменение заряда белка, в следствии лиганд-индуцированных конформационных изменений полипептидной цепи, приводящих к соответствующим изменениям в пространственном расположении аминокислотных радикалов. Поэтому можно предположить, что 6 часовое воздействие хлороформа приводит к максимальному образованию дисульфидных мостиков и конформационные изменения в молекуле белка приводят к тому, что доступность других, еще не вовлеченных в процесс образования сшивок SH-групп, становится затруднительным, что и отражается в дальнейшем менее выраженном снижении электрофоретической подвижности фракций гемоглобина при 12 часовой экспозиции.

Также было исследовано влияние бензола на электрофоретическую подвижность гемоглобина. Полученные данные представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Изменение электрофоретической подвижности гемоглобина
под влиянием бензола ($M \pm m, R_f$)**

Время экспозиции (час)	Фракции	Контрольные образцы	Взаимодействие с бензолом
0,5	1	0,65±0,05	0,5±0,04*
	2	0,57±0,04	0,45±0,03*
	3	0,5±0,06	0,39±0,02
1	1	0,63±0,06	0,48±0,02*
	2	0,53±0,05	0,41±0,02*
	3	0,39±0,03	0,30±0,01*
6	1	0,66±0,04	0,49±0,04*
	2	0,57±0,05	0,43±0,02*
	3	0,5±0,05	0,29±0,03*
12	1	0,68±0,05	0,34±0,03*
	2	0,59±0,04	0,51±0,04
	3	0,52±0,04	0,42±0,02*

Примечание: * - достоверность различий показателей по сравнению с контрольными образцами ($p < 0,05$).

Как следует из данных таблицы 2 в случае связывания гемоглобина с бензолом наблюдается снижение электрофоретической подвижности. Электрофоретическая

подвижность первой фракции гемоглобина при взаимодействии с бензолом по сравнению с нативным гемоглобином уменьшилась после 30 минут инкубации на 23,1%, в 1 час - на 23,8%, в 6 часовой экспозиции - на 25,7%. Как видно в случае связывания бензола с белком при 12 часовом воздействии бензола электрофоретическая подвижность 1 фракции проявила максимум снижения – на 50% относительно контрольных показателей. Электрофоретическая подвижность второй фракции гемоглобина при взаимодействии с бензолом по сравнению с нативным гемоглобином уменьшилась на 21,1%, 22,6%, 24,6% и 13,6% соответственно временным рамкам инкубации в условиях проводимого эксперимента.

Для третьей фракции гемоглобина была характерна та же тенденция – снижение составило 22% при взаимодействии с бензолом в течение 30 минут, на 23,1% - при 1 часовой инкубации, на 42% - при 6 часовом воздействии бензола и на 19,2 после 12 часов экспозиции. Практически во всех 4 экспозициях в случае связывания бензола с гемоглобином наблюдается достоверное снижение электрофоретической подвижности ($p < 0,05$). При анализе электрофоретической подвижности взаимодействия белковых молекул с бензолом, т.е. за все время экспозиции, наиболее выраженные изменения электрофоретической подвижности наблюдаются так же при 6 часовом воздействии.

При сравнении электрофоретической подвижности гемоглобина, инкубированного с бензолом и хлороформом, оба денатурирующих агента оказывают равнозначное воздействие на гемопротеид. Данные явления воспроизводятся во всех электрофоретических экспериментах, как при инкубации гемопротеида с хлороформом, так и при инкубации с бензолом. Это позволяет выдвинуть предположение о том, что насыщение гемоглобина как хлороформом, так и бензолом оказывает денатурирующее действия на структуру изучаемого белка. Можно предположить возможность образования полимерных форм белка, что свидетельствует об усилении агрегации белковых молекул, о чем свидетельствует более плотная окраска исследуемого белка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что в условиях насыщения гемоглобина хлороформом и бензолом происходит снижение электрофоретической подвижности всех его фракций.
2. Установлено, что в условиях проведенных экспозиций гемоглобина с исследуемыми лигандами выявляется их сходный денатурирующий эффект, что выражается в близкой электрофоретической подвижности фракций гемоглобина, инкубированных с изученными углеводородами.

Список литературы

1. Бонашевская Т.И. Морфологическая оценка изолированного и сочетающего действия химических и физических факторов окружающей среды / Т.И. Бонашевская, М.А. Пинигин // Гигиена и санитария. – 1991. – №2. – С.54.
2. Красовский Г.Н. Обоснование предельно допустимой концентрации хлороформа в питьевой воде / Г.Н. Красовский, А.П. Ильницкий, В.М. Воронин // Гигиена и санитария. – 1991. – №2. – С.14-15.

3. Комнацки Р.А. Влияние хлороформной интоксикации на активность аминотрансфераз в сыворотке крови / Р.А. Комнацки, А.А. Виноградов // Вісник ЛНУ імені Тараса Шевченка. – 2013. – № 19 (278), Ч. I. – С.25.
4. Влияние хронической интоксикации хромом и бензолом на антиоксидантный статус крыс / С.В. Тимошинова, Н.В. Шарапова, И.В. Михайлова и др. // Вестник ОГУ. – 2004. – №10. – С. 132-133.
5. Савенко В.С. Природные и антропогенные источники загрязнения атмосферы / В.С. Савенко – М.: Наука, 1991. – С.191-207.
6. Жиряков В.Г. Органическая химия / Жиряков В.Г. – М.: Издательство «ХИМИЯ», 1978. – 407 с.
7. Красовский Г.Н. Хлорирование воды как фактор повышенной опасности для здоровья населения / Г.Н. Красовский, Н.А. Егорова // Гигиена и санитария. – 2003. – №1. – С.140.
8. Воронин В.М. Изучение канцерогенности хлороформа / В.М. Воронин, Н.Н. Литвинов, В.И. Казачков // Вопросы онкологии. – 1987. – Т.33, №8. – С.81-85.
9. Васьковская Л.Ф. Циркуляция и трансформация хлорфосфатов, ртутьпроизводных препаратов в системе окружающая среда биологический объект / Л.Ф. Васьковская – К.: Наукова думка, 1985. – С. 156.
10. Измайлова В.Н. Структурообразование в белковых системах / В.Н.Измайлова, П.А. Ребиндер– М.: Наука, 1974. – 329 с.
11. Кяйвярайнен А.И. Динамическое поведение белков в водной среде и их функции / А.И. Кяйвярайнен – Л.: Наука, 1980. – 272 с.
12. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1949. – Vol.21 – P.224–226.
13. Гааль Э. Электрофорез в разделении биологических макромолекул / Гааль Э., Медьша Г., Верецкий А. – М.: Мир, 1982. – 446 с.

Гидулянов А.О. Вплив денатуруючих гідрофобних агентів на електрофоретичну рухливість гемоглобіну / А.О.Гидулянов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 33-40.

Проведено порівняльне дослідження впливу хлороформу та бензолу на електрофоретичну рухливість фракцій гемоглобіну. У результаті досліджень отримані дані, що свідчать про зміну електрофоретичної рухливості під впливом вуглеводнів.

Ключові слова: гемоглобін, хлороформ, бензол, електрофоретична рухливість.

INFLUENCE OF DENATURING HYDROPHOBIC AGENTS ON THE ELECTROPHORETIC MOBILITY OF HEMOGLOBIN

Gidulyanov A.A.

***Southern Branch NUL&ES of Ukraine "Crimean Agrotechnological University", Simferopol,
Crimea Republic, Russia
E-mail: sga@mail.ru***

Pollution of modern industrial cities are multicomponent mixtures of xenobiotics. Study of toxic effects of xenobiotics on the body is relevant biomedical problem. Xenobiotics are common - in the environment, manufacturing, pharmacy, in everyday life. More than 200 xenobiotics surround modern man at home and in the workplace. Nevertheless, the mechanisms of adaptation to their impact so far is not enough to study. In particular , it refers to the action of xenobiotics on the erythrocyte system and consequences of this action. Decision of this problem is a scientific interest for both practical and theoretical medicine. The high degree of anthropogenic influence explains the necessity to develop

approaches that identify its consequences are still in the early stages of exposure. It has to relate the assessment of systems, which response to environmental contaminants, that is defined as the chemical nature of toxicants and their biotransformation mechanisms. At the present time much attention is devoted to the potential risk of organochlorine compounds which are formed at different stages of cleaning and disinfection of drinking water at water stations. In the most amount are formed chloroform, for what hasn't been established scientifically based maximum permissible concentration in drinking water. Organic materials are widely used as solvents. Among such substances - chloroform and benzene. Problem of the influence of chloroform and benzol on living organisms has recently attracted increasing attention. It has been known system and cellular mechanisms of toxic action, but the molecular mechanisms are not enough understood. Disorders in the normal functioning of living organisms make questions about the mechanisms of action of this factor, realizing at the molecular and cellular levels and related changes in the structure of biological molecules and their function. In particular, high interest is finding mechanisms of action of low molecular weight halogenated hydrocarbons and their hydrophobic nature of conformational transitions of biopolymers, performing at the molecular and cellular level. Exploring of the mechanism of interaction of hydrophobic small molecules to proteins requires research on protein models using different substances hydrophobic nature. Therefore, the aim of this study was to conduct a comparative analysis of the influence of chloroform and benzole on the electrophoretic mobility of hemoglobin. When comparing the electrophoretic mobility of hemoglobin incubated with benzole and chloroform, both agents have provided influence on hemoproteine. These conditions are reproduced in all electrophoretic experiments as incubation hemoprotein with chloroform so incubation with benzole. It allows put forward the assumption that the saturation of hemoglobin as chloroform, benzole has a denaturing effect on the protein structure. It can be assumed the possibility of the formation of polymer forms of the protein that indicates an increase in aggregation of the protein molecules as evidenced by more dense coloring investigated protein. It has been shown that after conditions of saturation of hemoglobin with chloroform and benzole electrophoretic mobility of all fractions is decreased. It has been established that after conditioning of exposures hemoglobin investigated ligands revealed their similar denaturing effect, resulting in a close electrophoretic mobility of hemoglobin fractions incubated with hydrocarbons studied.

Keywords: hemoglobin, chloroform, benzole, electrophoretic mobility.

References

1. Bonashevskaya T.I., Pinigin M.A. Morphological evaluation of isolated and combined effects of chemical and physical environmental factors, *Hygiene and Sanitation*, **2**, 54 (1991).
2. Krasovskii G.N., Il'nitsky A.P., Voronin V.M. Justification of the maximum allowable concentration of chloroform in drinking water, *Hygiene and Sanitation*, **2**, 14-15 (1991).
3. Komnatski R.A., Vinogradov A.A. Effect of chloroform intoxication on aminotransferase activity in serum, *News LNU im. Taras Shevchenko*, **19 (278)**, 25 (2013).
4. Timoshinova S.V., Sharapova N.V., Mikhailov I.V. Effect of chronic intoxication with benzene and chromium on antioxidant status of rats, *Vestnik OSU*, **10**, 132-133 (2004).
5. Savenko V.S. *Natural and anthropogenic sources of air pollution*, 405 p. (Nauka, 1991).

6. Zhiryakov V.G. *Organic chemistry*, 407 p. (Publishing House "Chemistry", 1978).
7. Krasovskii G.N., Egorova N.A. Chlorination of water as a factor in increased risk to public health, *Hygiene and Sanitation*, **1**, 140 (2003).
8. Voronin V.M., Litvinov N. N., Kazatchkov V.I. Study carcinogenicity of chloroform, *Problems of Oncology*, **33**, 81-85 (1987).
9. Vaskovskaya L.F. Circulation and transformation chlorophosphate, rutproizvodnyh drugs in the system environment to biological, 156 p. (Naukova Dumka, 1985).
10. Izmailov V.N., Rebinder P.A. *Gelation in protein systems*, 329 p. (Nauka, 1974).
11. Kaivarainen A.I. *The dynamic behavior of proteins in aqueous medium and their functions*, 272 p. (Nauka, 1980).
12. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and haemoglobin in the crystalline, *Arch. Biochem*, **21**, 224 – 226 (1949).
13. Gaal E., Medysha F., Veretsky A. *Electrophoresis separation of biological macromolecules*, 446 p. (Nauka, 1982).

Поступила в редакцию 14.05.2014 г.

УДК 577.112.4

**ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ В УРОВНЕ
ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ
ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ И
БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Гидулянов А.А.

*Южный филиал национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Республика Крым,
Российская Федерация
E-mail: sgaa@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение тканеспецифических различий в содержании продуктов окислительной модификации в тканях печени и мышц представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius sp.*). В результате исследований получены данные, свидетельствующие о наличии различий в содержании продуктов окислительной модификации белков как в различных тканях, так и у разных представителей позвоночных и беспозвоночных животных.

Ключевые слова: белки, окислительная модификация, филогенез.

ВВЕДЕНИЕ

Течение различных патологических процессов и способность отвечать на стресс у животных в той или иной степени зависят от особенностей организма. Выяснение биохимических механизмов функционирования клетки является важным аспектом решения одной из фундаментальных проблем биологии. Разные филогенетические группы характеризуются различной степенью выраженности процессов перекисных процессов, окислительной модификации белков, содержания среднемолекулярных олигопептидов [1, 2].

Окислительная модификация белков – один из ранних индикаторов поражения тканей при свободнорадикальной патологии. Окислительная модификация белков вызывается активными формами кислорода (АФК), которые образуются во всех аэробных клетках, при этом нарушение баланса в системе «окислительные – антиоксидантные процессы» может является причиной гибели клетки. Таким образом, пероксидация белков играет большую роль в процессе развития ряда патологических заболеваний и старения организма [3, 4].

Окислительная модификация белков (ОМБ) играет важную роль в обороте протеинов в организме. Накопление окисленных белков рассматривается как один из факторов регуляции синтеза и распада протеинов, активации мультипротеолитических протеаз, избирательно разрушающих окисленные белки.

Фактически разрушение окисленных белков рассматривается как проявление вторичной антиоксидантной защиты в организме [5, 6].

ОМБ происходит постоянно во всех живых организмах. На интенсивность деструктивных процессов и процессов распада окисленных метаболитов влияет 2 фактора: внешний, т.е. влияние окружающей среды и внутренний – процессы образования активных форм кислорода (АФК) и их утилизация в результате деятельности антиоксидантной системы (АС). Оба этих фактора взаимосвязаны [5].

Известно, что практически все метаболические реакции катализируются ферментами, поэтому регуляция метаболизма сводится к регуляции типа и интенсивности ферментативных функций. Считается, что основным токсическим субстратом, ответственным за возникновение стадии аутоагрессии эндотоксикоза, могут стать продукты клеточной дезорганизации, неполного распада и неферментного превращения белков крови и тканей.

На этом основании целью исследования явилось сравнительное изучение содержания продуктов окислительной модификации в мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius sp.*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований была печень и мышечная ткань представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius sp.*). Метод основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием производных 2,4-динитрофенилгидразона. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали спектрофотометрически при длинах волн: 356нм, 370нм, 430нм, 530нм [7, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее распространенный и легко обнаруживаемый тип повреждения белков - образование карбонильных групп при окислении аминокислот (лизина, аргинина и пролина) [8]. Процессы окислительной модификации белков протекают в нормально функционирующем организме за счет металлокатализирующего окисления. Накопление окисленных белков рассматривается как один из факторов регуляции синтеза и распада белков, активации протеаз. В условиях окислительного стресса происходит избыточное образование свободных радикалов. В основном это реакционноспособные атомы и молекулы кислорода: супероксидный анионрадикал, перекись водорода, гидроксильный радикал, а также синглетный кислород.

Интенсификация свободнорадикальных реакций может вызвать повреждение мембран клеток и их барьерную, рецепторную и обменные функции, модификацию молекул нуклеиновых кислот и белков, что ведет к мутациям и инактивации ферментов. В условиях окислительного стресса происходит окислительная модификация белков. Свободные радикалы атакуют белки по всей длине полипептидной цепи, нарушая не только первичную, но вторичную и третичную

структуру белков, что приводит к агрегации или фрагментации белковой молекулы [8]. Оценкой степени окислительной модификации белковых молекул является исследование количества входящих в их состав карбонильных групп. Содержание данных групп в циркулирующих и тканевых белках считается ранним, чувствительным и достаточно стабильным маркером свободнорадикального повреждения [9].

При изучении содержания продуктов окислительной модификации белков в гомогенате мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp.) получены данные, представленные в таблице 1.

Таблица 1

Содержание продуктов окислительной модификации белков в гомогенате мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp.), (M±m)

Объекты исследования	Исследуемая ткань	Длина волны (нм)			
		356 нм ед.опт.пл / 1 г белка	370 нм ед.опт.пл / 1 г белка	430 нм ед.опт.пл / 1 г белка	530 нм ед.опт.пл / 1 г белка
<i>Helix albescens</i> (n=30)	мышцы	7,2±0,22	5,4±0,16	3,2±0,01	0,9±0,027
	печень	6,2±0,19	5,5±0,17	4,2±0,13	0,4±0,012
<i>Eubania vermiculata</i> (n=30)	мышцы	5,6±0,17*	4,2±0,13*	3,8±0,12*	0,8±0,024*
	печень	4,5±0,13*	3,7±0,11*	3,2±0,09*	0,6±0,018*
<i>Cyprinus carpio</i> (n=30)	мышцы	10,2±0,3***	9,8±0,29***	8,8±0,26***	1,2±0,036**
	печень	7,2±0,21***	4,8±0,14***	4,2±0,13***	1,5±0,047***
<i>Carassius</i> sp. (n=30)	мышцы	11,66±0,4***	9,72±0,29***	9,2±0,2***	1,7±0,06***
	печень	7,8±0,23***	5,8±0,11***	8,9±0,32***	1,6±0,06***

Примечание: * - достоверность различий показателей *Eubania vermiculata*, *Cyprinus carpio* и *Carassius* sp. относительно *Helix albescens* (p<0,05); ** - достоверность различий показателей *Cyprinus carpio* и *Carassius* sp. относительно *Eubania vermiculata* (p<0,05); *** - достоверность различий показателей *Carassius* sp. относительно *Cyprinus carpio* (p< 0,05).

Полученные результаты свидетельствуют о протекании процессов окислительной модификации белков, свидетельством чего является наличие продуктов окислительной модификации в гомогенате печени и мышечной ткани исследуемых животных. Наибольшее количество альдегидных и кетонных группировок аминокислотных остатков, которые взаимодействуют с 2,4 -

денитрогидразином и регистрируются при 356 нм, 370 нм (продукты окислительной модификации нейтрального характера) и альдегидных и кетонных группировок аминокислотных остатков, регистрирующихся при 430 нм и 530 нм (продукты основного характера), характерно для представителя класса костные рыбы *Carassius sp.* и снижаюся в ряду *Carassius sp.*→*Cyprinus carpio*→*Helix albescens*→ *Eubania vermiculata*.

У представителя класса брюхоногие моллюски *Eubania vermiculata* отмечено достоверное снижение продуктов окислительной модификации нейтрального характера по сравнению с *Helix albescens* в мышцах - на 22,2 %, и печени – на 27,4%. Уровень продуктов основного характера в печени и мышечной ткани снижается на 17% и на 12% соответственно. При сравнении уровня продуктов окислительной модификации белков нейтрального характера у представителя класса костные рыбы *Cyprinus carpio* относительно представителей брюхоногие моллюски получены данные, свидетельствующие о том, что в мышечной ткани карпа суммарный уровень продуктов нейтрального характера на 107% выше чем у *Eubania vermiculata*, в печени – на 45% выше соответственно.

Уровень продуктов основного характера в мышечной ткани *Cyprinus carpio* достоверно преобладает – на 117% относительно показателей *Eubania vermiculata*, в печени – на 50%. Сравнивая показатели *Cyprinus carpio* относительно *Helix albescens* выявлено, что продукты окислительной модификации как нейтрального, так и основного характера достоверно повышаются в мышечной ткани – на 38,7% и на 114%, в печени прослеживается тенденция к повышению на 2,56% и достоверно повышается на 23,9% соответственно.

В мышечной ткани отмечено достоверное повышение альдегидных и кетонных группировок аминокислотных остатков нейтрального характера в направлении *Eubania vermiculata*→*Helix albescens*→*Cyprinus carpio*→*Carassius sp.* и повышение составляет относительно их уровня у *Eubania vermiculata* на 28,6%, на 104%, на 118% соответственно.

В печени наблюдается достоверное повышение продуктов нейтрального характера у *Carassius sp.* по сравнению с *Eubania vermiculata* и *Helix albescens* на 66% и на 16%. По сравнению с *Cyprinus carpio* в печени наблюдается тенденция к повышению на 13%. Уровень продуктов основного характера как в печени, так и в мышечной ткани достоверно понижается в направлении *Carassius sp.*→*Cyprinus carpio*→*Helix albescens*→ *Eubania vermiculata*.

Различия в накоплении продуктов свободнорадикального окисления белковых компонентов тканей различных филогенетических групп служат основанием для более глубоких дальнейших исследований механизмов повреждающего действия АФК на белки тканей. Данные об энергетической «стоимости» поддержания позы и передвижения у животных различных филогенетических групп показали, что преимущества высокого аэробного потенциала у позвоночных связаны с увеличением способности к длительному передвижению за счет аэробного источника энергии. Для беспозвоночных очень важны процессы анаэробного гликолиза, так как это позволяет им совершать очень медленные передвижения. Напротив, у позвоночных локомоция обеспечивается главным образом аэробными

процессами (хотя эти животные, разумеется, должны быть способны и к интенсивному анаэробному гликолизу). Необходимость аэробного обеспечения локомоции была главным фактором, который в процессе эволюции привел к увеличению потребления O_2 позвоночными животными примерно в 10 раз по сравнению с беспозвоночными [11]. Плотность расположения митохондрий у позвоночных на порядок выше, чем у беспозвоночных. В ходе реакций биологического окисления выделяется и расходуется энергия с КПД порядка 50 – 90%, энергия затрачивается на синтез макроэргических соединений, основным из которых является аденозинтрифосфат. Материальным механизмом процесса биологического окисления является дыхательная цепь – система транспорта электронов от восстановленного органического субстрата к кислороду. В начале цепи группа дегидрогеназ осуществляет активацию водорода субстрата, а в окончании цепи имеет место активация кислорода с помощью терминальных оксидаз. Возникающие в ходе этого универсального процесса нестойкие промежуточные продукты – активные формы кислорода ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , HO^{\cdot}), в силу возможной “утечки” из системы транспорта электронов, могут играть роль инициаторов процесса неферментативного пероксидного окисления. Таким образом, преобладание содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях рыб по сравнению с брюхоногими моллюсками может быть связано с более высокой концентрацией митохондрий в тканях рыб, и как следствие более активной “утечкой” АФК из системы транспорта электронов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показана зависимость интенсивности окислительных процессов от типа ткани, в которой они происходят, и от классов животных, что может характеризовать филогенетический аспект.
2. Установлено, что белки мышечной ткани и печени подвержены окислительной модификации, в большей степени у *Carassius sp.* и отмечено снижение в ряду *Carassius sp.* → *Cyprinus carpio* → *Eubania vermiculata* → *Helix albescens*.

Список литературы

1. Синицкая Н.С. Роль пептидов в свободно-радикальном окислении и старении организма / Н.С. Синицкая, В.Х. Хавинсон // Успехи совр. биологии. – 2002. – Т. 122. – Вып. 6. – С. 557.
2. Немова Н.Н. Свойства и физиологическая роль внутриклеточных протеиназ в тканях рыб / Н.Н. Немова // Усп. совр. биол. – 1991. – Т. III. – Вып. 6. – С. 948-954.
3. Подунай Ю.А. Возрастная динамика активности катепсинов и содержания средномолекулярных пептидов в мышцах морского ерша / Ю.А. Подунай, И.Н. Залевская, И.И. Руднева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского, Серия «Биология, химия». - Том 22 (61). - 2009. - № 4. - С. 128-134.
4. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Лушак // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 8. – С. 995-1017.
5. Влияние разных типов питания на степень окислительной модификации белков плазмы крови кролика (*Oryctolagus cuniculus*). Библиографическое описание: Тарасов С.С. Влияние разных типов питания на степень окислительной модификации белков плазмы крови кролика (*Oryctolagus cuniculus*) [Текст] / С. С. Тарасов // Молодой ученый. — 2011. — №12. Т.1. — С. 116-120.

6. Beppu M. Presence of membrane bound proteinases that preferentially degrade oxidatively damaged erythrocyte membrane proteins as secondary antioxidant defense / M.Beppu, M.Ynoue, T.Yshikawa, K.Kikugawa // *Biochem., Biophys., Acta.* – 1994. – Vol. 1196, №1. – P. 81- 87.
7. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов // *Вопр. мед. химии.* – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24.
8. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков / Е.Е.Дубинина, И.В. Шугалей // *Успехи современной биохимии.* – 1993. – Т.113, №1. – С.71–81.
9. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование в очищенных белках с использованием системы Фентона / Е.Е.Дубинина, С.В.Гавровская, Е.В. Кузьмич // *Биохимия.* - 2002. - Т. 67. - С. 413-421.
10. Голубев С.Н. Онтогенетические изменения и эволюционные тенденции раннекембрийских спиральных гастропод Pelagiellacea / С.Н. Голубев // *Палеонтол. журн.* - 1976. № 2. - С. 34–40.
11. Хочачка П. Биологическая адаптация / П.Хочачка, Дж. Сомеро. – М.: Мир,1988. – 568 с.

Гидулянов А.О. Дослідження тканиноспецифічних відмінностей в рівні продуктів окислювальної модифікації білків в тканинах окремих представників хребетних і безхребетних тварин / **А.О.Гидулянов** // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”.* – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 41-47.

Проведено порівняльне вивчення тканиноспецифічних відмінностей у змісті продуктів окислювальної модифікації в тканинах печінки і м'язів представників класу червононогі моллюски (*Eubania vermiculata* і *Helix albescens*) і класу кісткові риби (*Syprinus carpio* і *Carassius* sp.). В результаті досліджень отримані дані, що свідчать про наявність відмінностей у змісті продуктів окислювальної модифікації білків як в різних тканинах, так і у різних представників хребетних і безхребетних тварин.

Ключові слова: білки, окислювальна модифікація, філогенез.

COMPARATIVE STUDY OF PEROXIDATION PROCESSES IN THE TISSUES OF INDIVIDUAL REPRESENTATIVES OF VERTEBRATES AND INVERTEBRATES

Gidulyanov A.A.

*Southern Branch NUL&ES of Ukraine "Crimean Agrotechnological University", Simferopol,
Crimea Republic, Russia
E-mail: sgaa@mail.ru*

During different pathological processes and the ability to respond to stress in animals depends on the characteristics of the organism. Elucidation of biochemical mechanisms of cell function is an important aspect of solving one of the fundamental problems of biology. Different phylogenetic groups are characterized by varying degrees of severity processes peroxide processes, oxidative modification of proteins, the content of average molecular oligopeptides. Oxidative modification of proteins - one of the early indicators of tissue damage by free radical pathology. Oxidative modification of proteins caused by reactive oxygen forms, which are formed in all aerobic cells, while an imbalance in the "oxidative - antioxidant processes" can cause the death of cells. Thus peroxidation of proteins plays an important role in the development of a number of pathological diseases and aging. Oxidative modification of proteins plays an important role in the turnover of proteins in the body. Accumulation of oxidized proteins is considered as one of the factors

regulating the synthesis and breakdown of proteins, activation of multiproteolytic proteases selectively deplete oxidative proteins. In fact, oxidative destruction of proteins is considered as a show of secondary antioxidant defenses in the body. Oxidative modification of proteins occurs constantly in all living organisms. The intensity of destructive processes and decay processes oxidized metabolites affect two factors: external, that is environmental influences and internal - the formation of reactive oxygen species and their utilization as a result of the antioxidant system. Both of these factors are interrelated. It is known that practically all of the metabolic reaction catalyzed by the enzymes, so the regulation of the metabolism is reduced to regulate the type and intensity of the enzymatic function. It is considered that the main toxic substrate responsible for the emergence stage autoaggression endotoxemia may be products of cellular disorganization, incomplete disintegration and non-enzymatic conversion of blood proteins and tissues.

Keywords: proteins, oxidative modification, phylogeny.

References

1. Sinitskaya N.S., Havinson W.H. Role of peptides in the free-radical oxidation and aging of the organism, *Advances mod. biology*, **6**, 557 (2002).
2. Nemov N.N. Properties and physiological role of intracellular proteases in fish tissue, *Phys. mod. biol.*, **6**, 948-954 (1991).
3. Podunay Y.A., Zalevskaja I.N., Rudneva I.I. Age dynamics of cathepsin activity and the content of middle molecules in the muscle of sea perch, *Scientific Notes of Taurida National V. I. Vernadsky University. – Series : Biology, chemistry*, **22** 128-134 (2009).
4. Lushchak V.I. Free radical oxidation of proteins and its relation to the functional state of the organism, *Biochemistry*, **72**, 995-1017 (2007).
5. Tarasov S. S. Influence of different types of power supply to the oxidative modification of rabbit plasma proteins (*Oryctolagus cuniculus*). Bibliographic description: Influence of different types of food on the degree of oxidative modification of plasma proteins rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), *Young scientist*, **1**, 116-120 (2011).
6. Beppu M., Ynoue M., Yshikawa T., Kikugava K. Presence of membrane bound proteinases that preferentially degrade oxidatively damaged erythrocyte membrane proteins as secondary autooxidantdefense, *Biochem., Biophys., Acta*, **1196**, 81 – 87 (1994).
7. Dubinina E.E., Burmistrov S.A., Hodov D.A. Oxidative modification of human serum proteins, the method of determining, *Issues. med. chemistr.*, **41**, 24 (1995).
8. Dubinina E.E., Shugalei I.V. Oxidative modification of proteins, *Successes of modern biochemistry*, **113**, 71 - 81 (1993).
9. Dubinina E.E., Gavrovskaya S.V., Kuzmich E.V. Oxidative modification of proteins: the oxidation of tryptophan and formation in purified proteins using Fenton system, *Biochemistry*, **67**, 413-421 (2002).
10. Golubev S.N. Developmental changes and evolutionary trends Early Cambrian spiral gastropods Pelagiellacea, *Paleontol. journal*, **2**, 34-40 (1976).
11. Hochachka P., Somero J. *Biological adaptation*, 568 p. (Mir, 1988).

Поступила в редакцию 14.05.2014 г.

УДК 577.115.4

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ В ТКАНЯХ ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Гидулянов А.А.

*Южный филиал национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Республика Крым,
Российская Федерация
E-mail: sgaa@mail.ru*

Проведено сравнительное изучение процессов липопероксидации в мышечной ткани и печени отдельных представителей позвоночных и беспозвоночных животных. Показано, что наиболее активно процессы пероксидации в печени протекают у представителей беспозвоночных животных, в мышечной ткани - у представителей позвоночных животных. При сравнении уровня ТБК – активных продуктов и концентрации общих липидов печени и мышечной ткани представителей классов брюхоногих моллюсков и костных рыб, были получены данные, свидетельствующие о том, что исследуемые процессы преобладают у представителей позвоночных животных.

Ключевые слова: активные формы кислорода, филогенез, перекисное окисление липидов, первичные продукты липопероксидации, общие липиды, малоновый диальдегид.

ВВЕДЕНИЕ

В современной биогеохимии господствует представление о том, что жизнь на Земле зародилась в анаэробных условиях. В таких условиях химическая эволюция соединений углерода совершалась под влиянием таких источников энергии как ультрафиолетовое излучение солнца, космические лучи, энергия излучения естественных и космогенных радионуклидов, электрические разряды в атмосфере, извержение вулканов, удары метеоритов, и привела к постепенному накоплению массы более и менее сложных органических соединений и их комплексов. Она способствовала формированию зачатков таких признаков живого как способность к росту, метаболизму и самовоспроизведению, с использованием массы накопленного органического материала и образованием сложных макромолекулярных комплексов [1, 2]. С появлением фотосинтеза, использующего в качестве источника энергии видимый свет, а в качестве донора электронов – воду, началось непрерывное и прогрессирующее обогащение гидро– и атмосферы Земли свободным кислородом.

Переход от господства восстановительных условий на поверхности древней Земли к условиям преимущественно окислительным открыл богатейшие источники энергии, однако, возникла опасность окислительного разрушения биологических

систем. Свободный кислород представлял собой угрозу органическим структурам простейших организмов [3].

С открытием цепных свободнорадикальных реакций стало понятно, что в норме во всех мембранах осуществляется процесс свободнорадикального окисления (СРО), тесно связанного с метаболизмом клетки, в том числе и обновлением фосфолипидов в мембране. Процессы пероксидации необходимы для нормального функционирования клетки. В норме концентрация продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) очень мала, а в избытке продукты пероксидации чрезвычайно токсичны [4].

Гораздо менее выяснена роль ПОЛ в функционировании нормальных физиологических систем клетки. Значение ПОЛ в животных клетках связывают с регуляцией проницаемости мембран, скоростью клеточного деления и состоянием окислительного фосфорилирования, синтезом простагландинов и стероидов. Несмотря на спонтанный, неферментативный по химической природе характер ПОЛ в физико-химических системах и биомембранах, в последние годы появились данные, свидетельствующие о возможности участия ферментативных систем клетки как в активации, так и в обрыве свободнорадикальных реакций [5].

Целью нашего исследования было сравнительное изучение интенсивности протекания процессов ПОЛ в тканях представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований была печень и мышечная ткань представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp.). Первичные продукты ПОЛ оценивали по методу Плацер З. в модификации Гаврилова В.Б., Мишкорудной М.А. [6]. Содержание общих липидов определяли колориметрическим методом [6]. Содержание ТБК-активных продуктов определяли тиобарбитуровым методом по Ohkava H. et al. [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что структура мембран резко затрудняет доступ молекулярного кислорода в клетку вследствие сильно замедленной диффузии его через липидный бислой, а также в результате активного функционирования системы регуляции стационарного уровня кислорода в клетке. Уровень содержания в клетке молекулярного кислорода составляет всего 10^{-6} М, еще ниже уровень активных форм кислорода, что и обеспечивает протекание полезных окислительных биологических процессов, а также нормального течения свободнорадикальных процессов липопероксидации в биологических мембранах [8]. Несмотря на неполноту современных знаний о роли ПОЛ в норме, в настоящее время установлено, что свободнорадикальные реакции ПОЛ, поддерживаемые специальными регуляторными системами на низком стационарном уровне,

принимают участие в нормальных метаболических процессах и регуляции функции клетки [9].

При изучении содержания общих липидов, гидроперекисей и ТБК – активных продуктов в гомогенате мышечной ткани и печени представителей беспозвоночных животных *Eubania vermiculata*, *Helix albescens* и представителей позвоночных животных *Cyprinus carpio*, *Carassius* sp. получены данные, представленные в таблице 1.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что процессы перекисидации протекают у всех исследуемых групп животных, как у представителей позвоночных, так и беспозвоночных. Как видно из полученных данных, у представителя беспозвоночных *Eubania vermiculata* прослеживается достоверное снижение уровня первичных продуктов ПОЛ относительно *Helix albescens* в печени на 34,5%, а мышечной ткани - на 38,6%.

Таблица 1

Содержание гидроперекисей, общих липидов и ТБК – активных продуктов в гомогенате мышечной ткани и печени представителей класса брюхоногие моллюски (*Eubania vermiculata* и *Helix albescens*) и класса костные рыбы (*Cyprinus carpio* и *Carassius* sp), (M±m)

Объекты исследования	Гидроперекиси, усл. ед./мг липидов		Общие липиды, мг/мл		ТБК – активные продукты, усл. ед./мг липидов	
	печень	мышцы	печень	мышцы	печень	мышцы
<i>Helix albescens</i> (n=30)	1,45±0,04	3,5± 0,04	35,3±1,4	31,45±0,4	3,25±0,13	2,7± 0,18
<i>Eubania vermiculata</i> (n=30)	0,95±0,04*	2,15±0,07*	39,5±1,97	33,5±2,34	2,35±0,16*	1,45±0,07*
<i>Cyprinus carpio</i> (n=30)	1,2±0,05**	4,2±0,12**	42,5± 2,5*	39,2±2,3**	3,2±0,13**	2,5±0,12**
<i>Carassius</i> sp. (n=30)	1,3±0,03**	4,7±0,18**	45.2±1,4**	42,2±1,3**	3,7±0,11**	2,9±0,09**

Примечание: * - достоверность различий показателей *Eubania vermiculata*, *Cyprinus carpio* и *Carassius* sp. относительно *Helix albescens* (p<0,05); ** - достоверность различий показателей *Cyprinus carpio* и *Carassius* sp. относительно *Eubania vermiculata* (p<0,05); *** - достоверность различий показателей *Carassius* sp. относительно *Cyprinus carpio* (p< 0,05).

У представителя позвоночных карпа *Cyprinus carpio* в печени прослеживается достоверное снижение уровня первичных продуктов ПОЛ по сравнению с *Helix albescens* на 17,2% и преобладание уровня ПОЛ относительно показателей *Eubania vermiculata* на 26,3%. В мышечной ткани карпа наблюдается достоверное

повышение уровня гидроперекисей по сравнению с *Eubania vermiculata* на 95%, по сравнению с *Helix albescens* - на 20%. В печени *Carassius* sp. наблюдается тенденция к повышению уровня первичных продуктов ПОЛ на 8% по сравнению с *Cyprinus carpio* и достоверное повышение - на 36,8% по сравнению с *Eubania vermiculata*.

Сравнивая исследуемые показатели в печени *Carassius* sp. и *Helix albescens* прослеживается достоверное снижение уровня первичных продуктов ПОЛ на 10,3%. Можно проследить достоверное повышение уровня первичных продуктов ПОЛ в мышечной ткани у представителя класса костные рыбы *Carassius* sp. по сравнению с *Helix albescens* на 34%, на - 119% по сравнению с *Eubania vermiculata* и на 12% по сравнению с *Cyprinus carpio*.

Данные, полученные при исследовании уровня общих липидов (ОЛ) свидетельствуют об их достоверном преобладании у *Eubania vermiculata* по сравнению с *Helix albescens* в печени и мышечной ткани на 12% и на 6,5% соответственно. При сравнении уровня общих липидов в тканях *Cyprinus carpio* относительно данного показателя *Eubania vermiculata* и *Helix albescens*, прослеживалось достоверное повышение уровня ОЛ в печени на 7,6% и на 20,4% соответственно, в мышечной ткани на 17% и на 24,6% соответственно. Сравнивая уровень ОЛ в мышечной ткани *Carassius* sp. прослеживается достоверное повышение по сравнению с *Helix albescens* на 34,2%, с *Eubania vermiculata* на 26%, с *Cyprinus carpio* на 7,7%. В печени прослеживается понижение концентрации ОЛ в направлении *Carassius* sp. → *Cyprinus carpio* → *Eubania vermiculata* → *Helix albescens*.

При сравнении уровня ТБК – активных продуктов печени и мышечной ткани представителей класса брюхоногие моллюски были получены данные, свидетельствующие о том, что у *Eubania vermiculata* уровень вторичных продуктов ПОЛ снижался по сравнению с *Helix albescens* на 27,7% в печени и в мышечной ткани на 46%. У представителя класса костные рыбы карпа *Cyprinus carpio* в печени уровень ТБК – активных продуктов достоверно превышал показатели *Eubania vermiculata* на 36,2%, в мышечной ткани – на 72,4%. Сравнивая уровень ТБК – активных продуктов *Cyprinus carpio* относительно показателей *Helix albescens*, прослеживалась тенденция к снижению в печени на 1,5% и в мышечной ткани - на 7,4%.

Сравнивая уровень вторичных продуктов ПОЛ *Carassius* sp. относительно показателей *Helix albescens* прослеживается достоверное повышение на 14% в печени и тенденция к повышению на 7,4% в мышечной ткани. При сравнении с *Eubania vermiculata* уровень ТБК – активных продуктов в печени и мышечной ткани достоверно повышается на 57% и на 100%, соответственно. При сравнении изученных показателей у *Carassius* sp и *Cyprinus carpio* прослеживается достоверное повышение на 16,6% в печени и на 16% в мышечной ткани.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее активно процессы пероксидации в печени протекают у представителя беспозвоночных животных (*Helix albescens*) и снижаются в ряду *Helix albescens* → *Carassius* sp → *Cyprinus carpio* → *Eubania vermiculata*. В мышечной ткани исследуемый процесс наиболее активен у представителей позвоночных животных

(*Carassius* sp и *Cyprinus carpio*), и снижается в направлении *Carassius* sp → *Cyprinus carpio* → *Helix albescens* → *Eubania vermiculata*.

Таким образом, проведенные исследования позволяют предположить, что процессы перекисидации липидов в печени и мышечной ткани отдельных представителей класса брюхоногие моллюски и класса костные рыбы характеризуются как видовой, так и межклассовой специфичностью.

Более активное протекание реакций липопероксидации в мышечной ткани рыб может быть обусловлено филогенетическими, эволюционно–приобретенными особенностями липидного состава клеточных мембран и внутриклеточного содержимого исследованной ткани – преобладание по сравнению с наземными видами полиненасыщенных жирных кислот, являющихся одними из основных субстратов для протекания реакций перекисидации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что процессы перекисидации липидов в печени и мышечной ткани отдельных представителей класса брюхоногие моллюски и класса костные рыбы характеризуется видовой специфичностью.
2. Показано наличие тканеспецифических различий свободнорадикальных процессов, отраженное в наиболее активном протекании процессов липопероксидации в печени представителя беспозвоночных животных (*Helix albescens*) и снижении в ряду *Helix albescens* → *Carassius* sp. → *Cyprinus carpio* → *Eubania vermiculata*. В мышечной ткани исследуемый процесс наиболее активен у представителей позвоночных животных (*Carassius* sp и *Cyprinus carpio*), и снижается в направлении *Carassius* sp. → *Cyprinus carpio* → *Helix albescens* → *Eubania vermiculata*.
3. Показано преобладание концентрации общих липидов и ТБК – активных продуктов печени и мышечной ткани *Carassius* sp. относительно *Eubania vermiculata*, *Cyprinus carpio* и *Helix albescens*. Увеличение уровня ТБК – активных продуктов наблюдалось в направлении *Eubania vermiculata*→*Helix albescens*→ *Cyprinus carpio*→ *Carassius* sp. для всех исследуемых видов животных

Список литературы

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В.А. Барабой // Успехи современной биологии. - 1991. – Т.111, №6. – С.923 – 931.
2. Барабой В.А. Окислительно–антиоксидантный гомеостаз в норме и при патологии: В 2 ч. / В.А.Барабой, Д.А. Сутковой. – Киев, 1997. –Ч1. – 202 с.
3. Арцукевич А.Н. Биохимические аспекты жизнедеятельности биологических систем / А.Н. Арцукевич, А.Н. Мальцев, В.В. Зинчук // Успехи современной биохимии. - 2000.- №6. - С. 19-23.
4. Александрова Т.А. Реакция перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в мембранах эндоплазматического ретикулума печени: Автореф.дис.... канд...наук.- М., 1975.- 2 0 с.
5. Конторщикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии: Учебное пособие / К.Н. Конторщикова - Н.Новгород, 2000. - 23 с.
6. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение гидроперекисей в плазме крови / В.Б.Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – №3. – С.34–37.

7. Ohkava H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkava, N. Ohishi, K. Yagi // *Analit. Biochem.* – 1979. – №2. – P. 351–358.
8. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
9. Давыдов Б.В. Интегральная оценка баланса перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы / Б.В. Давыдов, В.Ю. Полумисков, П.П. Голиков // *Клиническая лабораторная диагностика.* - 1991. - С. 48-49.
10. Голубев С.Н. Онтогенетические изменения и эволюционные тенденции раннекембрийских спиральных гастропод Pelagiellacea / С.Н. Голубев // *Палеонтол. журн.* - 1976. № 2. - С. 34–40.

Гідулянов А.О. Порівняльне вивчення процесів пероксидації в тканинах окремих представників хребетних та безхребетних тварин / А.О.Гідулянов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 48-54.

Проведено порівняльне вивчення процесів ліпопероксидації в м'язовій тканині та печінці окремих представників хребетних і безхребетних тварин. Показано, що найбільш активно процеси пероксидації в печінці протікають у представників безхребетних тварин, в м'язовій тканині - у представників хребетних тварин. При порівнянні рівня ТБК - активних продуктів і концентрації загальних ліпідів печінки і м'язової тканини представників класів червононогих молюсків і кісткових риб, були отримані дані, що свідчать про те, що досліджувані процеси переважають у представників хребетних тварин.

Ключові слова: активні форми кисню, філогенез, перекисне окислення ліпідів, первинні продукти ліпопероксидації, загальні ліпіди, малоновий диальдегід.

COMPARATIVE STUDY OF PEROXIDATION PROCESSES IN THE TISSUES OF INDIVIDUAL REPRESENTATIVES OF VERTEBRATES AND INVERTEBRATES

Gidulyanov A.A.

*Southern Branch NUL&ES of Ukraine "Crimean Agrotechnological University", Simferopol,
Crimea Republic, Russia
E-mail: sgaa@mail.ru*

In recent biogeochemistry prevailing idea that life on Earth originated in anaerobic conditions. In such conditions, the chemical evolution of carbon compounds was accomplished under the influence of energy sources such as ultraviolet radiation from the sun, cosmic rays, radiation energy and natural cosmogenic radionuclides, electrical discharges in the atmosphere, volcanic eruptions, meteorite impacts, and led to the gradual accumulation of mass of more or less complex organic compounds and their complexes. It has contributed to the formation of the rudiments of such features as the ability to live growth, metabolism and self-replication, using the accumulated mass of organic material and the formation of difficult macromolecular complexes. With the appear of photosynthesis, using as a source of visible light energy and an electron donor – water, began and continued progressive enrichment of hydro- and oxygen- free atmosphere of the earth. Transition from the rule of reducing conditions on the surface of the Earth to the conditions of mainly oxidative opened the richest sources of energy, however, there was a risk of oxidative degradation of biological systems. Free oxygen posed a threat to organic structures of simple organisms. With the opening of the chain of free radical reactions it

became clear that the norm in all membranes the process of free radical oxidation, which is closely associated with the metabolism of cells, including the updating of phospholipids in the membrane. Peroxidation processes are essential for normal functioning of cells. Normally, the concentration of lipid peroxidation is very small and in excess of extremely toxic peroxidation products. Much less explained the role of lipid peroxidation in the normal functioning of the physiological systems of cell. Meaning of lipid peroxidation in animal cells is associated with the regulation of membrane permeability rate of cell division and the state of oxidative phosphorylation, the synthesis of prostaglandins and steroids. Despite in the spontaneous, non-enzymatic nature of the chemical nature of lipid peroxidation in the physico-chemical systems and biological membranes, in recent years there is evidence of possible participation of the enzyme systems in the activation of cells as well as in the interrupt of free radical reactions.

Keywords: active oxygen forms, phylogeny, lipid peroxidation, the primary products of lipid peroxidation, total lipids, malondialdehyde.

References

1. Baraboi V.A. Mechanisms of stress and lipid peroxidation, *Advances in modern biology*, **111**, 923 – 931 (1991).
2. Baraboi V.A., Sutkovoy D.A. *Oxidation-antioxidant homeostasis in normal and pathology*, 202 p. (Kyiv, 1997).
3. Artsukevich A.N., Maltsev A.N., Zinchuk V.V. Biochemical aspects of functioning of biological, *Successes of modern biochemistry*, **6**, 19-23 (2000).
4. Alexandrov T.A. Reaction of peroxidation of unsaturated fatty acids in the membranes of the endoplasmic reticulum of the liver, *Avtoref. dis candidate ... sciences*, 20 p. (1975).
5. Kontorshchikova K.N. *Lipid peroxidation in health and disease*, 23 p. (Study Guide, 2000).
6. Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. Spectrophotometric determination of hydroperoxides in plasma, *Lab. business*, **3**, 34-37 (1983).
7. Ohkava H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analit. Biochem.*, **2**, 351-358 (1979).
8. Vladimirov Y.A., Archakov A.I. *Lipid peroxidation in biological membranes*, 252 p. (Nauka, 1972).
9. Davydov B.V. Polumiskov V.Yu., Golikov P.P. Integral assessment of the balance of lipid peroxidation and antioxidant system, *Clinical laboratory diagnostics*, 48-49 (1991).
10. Golubev S.N. Developmental changes and evolutionary trends Early Cambrian spiral gastropods Pelagiellacea, *Paleontol. journal*, **2**, 34-40 (1976).

Поступила в редакцию 14.05.2014 г.

UDK 599.5:262.5

CETACEAN STRANDINGS ON THE COAST OF THE KALAMITA GULF (BLACK SEA)

Gol'din P.E.¹, Kirukh K.G.¹, Vishnyakova K.A.^{2,1}, Gladilina E.V.^{3,1}

¹*Taurida National University, Simferopol*

²*South Scientific Research Institute of Marine Fisheries and Oceanography, Kerch*

³*National Reserve of Tauric Chersonesos, Sevastopol*

E-mail: pavelgoldin412@gmail.com

We report the results of a program of monitoring of cetacean strandings which has been conducted on the south-western coast of Crimea: data were collected from the 12 km long coastline of the Kalamita Gulf (Black Sea) between Novofyodorovka and Nikolaevka in 2008–2013. In total, 186 stranded cetaceans (134 harbour porpoises, 39 bottlenose dolphins and 13 common dolphins) were recorded. The coast of Kalamita Gulf is characterized by the unusually high rate of cetacean strandings (at least, 3 strandings per km per year). Harbour porpoises mainly stranded in June and July (the median date for neonate strandings was June 28), while bottlenose dolphins uniformly occurred during the warm season with a slight peak in April. The greatest number of porpoise strandings fell on 2012, and bottlenose dolphins on 2013. In the age structure of both species, neonates and calves (age class 0) and yearlings dominated which is an indirect evidence for population growth. A specific feature of the sample was the presence of animals with the marks of ship collisions.

Keywords: cetaceans, harbour porpoise, bottlenose dolphin, common dolphin, mortality, seasonal occurrence.

INTRODUCTION

Analysis of cetacean strandings is an important source of information on cetacean distribution, seasonal occurrence, morphology, life history and even some population parameters [1]. An accurate record of strandings in certain coastal areas (ideally covering a substantial portion of the coastline) is the necessary precondition for further biological and biogeographical studies. In the Black Sea region, the most detailed recent data specified by a regional aspect have been already published for the southern Sea of Azov [2], Black Sea coast of Taman Peninsula [3], some areas of the Crimean south-eastern coast [4, 5] and Turkish western Black Sea coast [6, 7]; and some general data for the northern Black Sea [8, 9]. Some estimates has been provided using questionnaire surveys [10].

Here we report the results of a program of monitoring of cetacean strandings which has been conducted on the south-western coast of Crimea.

MATERIALS AND METHODS

Data were collected from regular field excursions along the 12 km long coastline of the Kalamita Gulf (Black Sea) on the south-western coast of Crimea between

Novofyodorovka and Nikolaevka in 2009–2013; some data were also obtained in 2008 (Fig. 1).

The following items were recorded for each of the findings, if available (see also [11]): date, location (geographical coordinates), physical conditions of the coast and weather, stage of preservation of a carcass, post mortem findings, by-catch and ship collision marks, species, sex, state of sexual maturity, pregnancy and/or lactation, body length and other body measurements, age or age category (neonates, calves born during the current year, yearlings, adult = sexually mature animals).

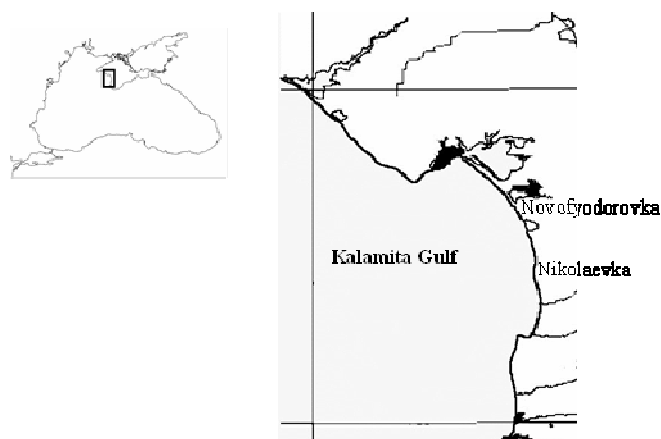


Figure 1. The region of study.

RESULTS AND DISCUSSION

General remarks

In total, 186 stranded cetaceans were recorded (180 specimens during 2009–2013). Thus, an average stranding rate was as high as 3 strandings per km per year. This is the highest rate ever recorded on the Black Sea coast in a mid-term run (excluding mass stranding events). For example, it generally varied within 0.5 to 1.5 strandings per km per year in various areas of the northern coast of the Black Sea and the Sea of Azov [2–4] and reached 2.3 strandings per km per year on the Turkish coast of the south-western Black Sea [7]. The actual stranding rate is suggested to be even higher, given that a large part of the monitoring area is the beach of the accumulative origin with a very high decomposition rate: 50% of carcasses of harbour porpoises are completely decomposed, buried or removed within 16 days [11]. Thus, we confirm the prediction made by Gol'din and Gol'din [10] who hypothesized high importance of the Kalamita Gulf coast for cetacean monitoring, based on results of questionnaire survey.

The most part of findings tends to the accumulative bars of coastal lakes Kyzyl-Yar and Bogaily. It can be partly explained by the robustness of these coasts to the wave activity and by general accumulative processes.

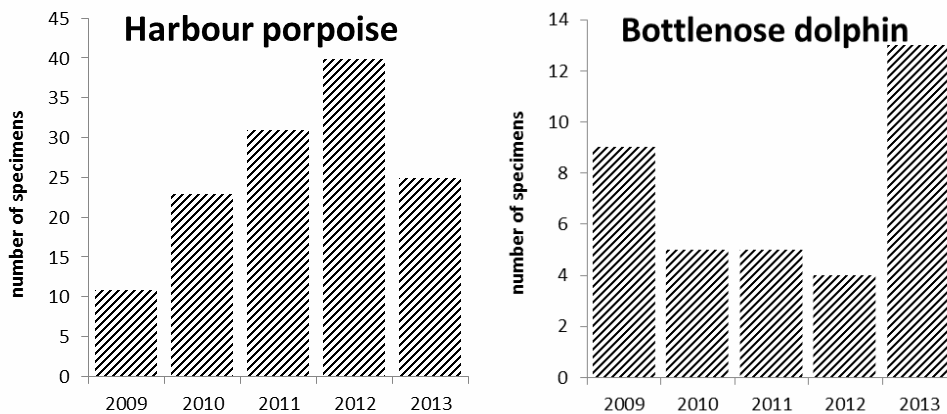


Fig. 2. Annual dynamics of strandings of harbour porpoises and bottlenose dolphins.

Harbour porpoise *Phocoena phocoena*

134 strandings (71.5% of all strandings) were recorded by us. The greatest number of strandings (40) was recorded in 2012, and the smallest number (11) was in 2009 (Fig. 2). The high prevalence of strandings in 2012 followed the general tendency of mass mortality in the northern Black Sea [12]: 32 dead porpoises (among them, 9 neonates) were found on June 11, 2012. Thus, the stranding rate was 2.17 specimens per km per year (1.87 without year 2012). The strandings were recorded all year round; however, 72% of porpoise strandings fell on two months, June (48) and July (49) (Fig. 3). This seasonality coincided with the occurrence of stranded neonates: 29 of 31 neonates (94%) were found in June and July, with the median date of June 28 (Fig. 4). A single pregnant female was recorded on June 7, 2009.

Sex ratio of stranded porpoises was close to 1:1 (53:47%). In age structure, neonates contained the largest portion (30 specimens, 23%), and combined neonates and calves (age class of 0 years) took 28% of the sample. Ratio of the age classes of 1 and 0 years was 0.315, a very low index. Body size categories generally met the values known for the Black Sea [13]; however, neonates were particularly small (49–80 cm, 64 cm on average) (Table 1).

By-catch marks were found on 10 animals; however, the most of carcasses were significantly decomposed, so many of them could also be by-caught. A single live stranding was recorded on July 25, 2009, in Nikolaevka: the wounded animal was later washed off to the sea.

The most unusual pattern of porpoise strandings was its seasonal shift: all previous records concerning western or south-western Crimea [8, 9, 13] reported the peak of strandings in May and June, the peak of births in the late May to early June and the peak of by-catch in turbot gillnets in May and June, the month earlier than in our observations. However, Birkun et al. [14] reported the peak of by-catches in turbot gillnets in June which meets to our data: it is even closer, if someone considers the time lag between the death and carcass stranding and the advance decomposition stage of many carcasses. Interestingly, the peak of mortality in turbot gillnets is not directly associated with the fishing effort (April-June), but it meets the peak of neonate strandings, which, in its turn, was later than 10–15 years ago and was similar to that in the Sea of Azov and Turkish

Black Sea western coast [7, 13]. We did not record the peak of by-catches in dogfish gillnets in August [14] due to dogfish catch restrictions after 2010.

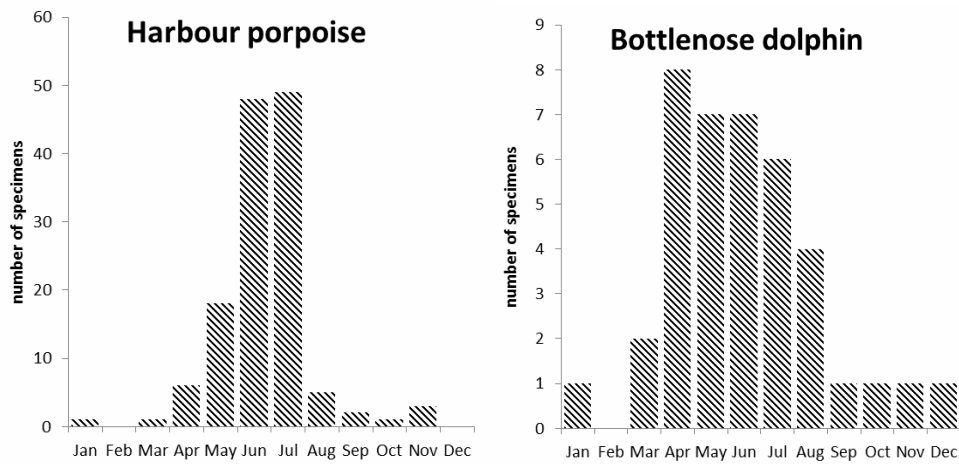


Fig. 3. Seasonal distribution of strandings of harbour porpoises and bottlenose dolphins.

Table 1
Body size of harbour porpoises stranded on the coast of the Kalamita Gulf.

Age class	n	Mean length, cm	±SD, cm
Neonates	21	64	9.5
Adult females	7	134.5	3.0
Adult males	6	125.5	3.5

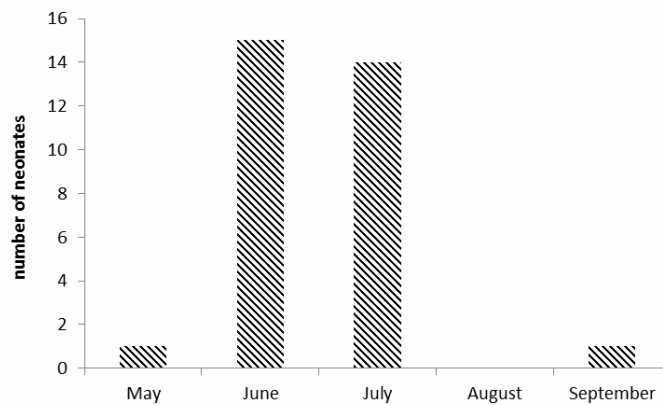


Fig. 4. Seasonality of neonate strandings of harbour porpoises on the coast of the Kalamita Gulf.

Bottlenose dolphin *Tursiops truncatus*

In total, 39 stranded animals were found (21% of all strandings). The greatest number of strandings (13) was recorded in 2013: the unusually high mortality of bottlenose dolphins in 2013 was observed along the entire Crimean coast [12]. Another peak of strandings fell on 2009, the year of high mortality of the Black Sea cetaceans [6, 12] (Fig. 2). The findings were recorded all year round, and the most of them fell on the warm season (April to August) with a clear spring aspect in April (Fig. 3). This seasonality confirms the hypothesis by Gladilina et al. [15] on the Kalamita Gulf as a wintering area for bottlenose dolphins.

Sex ratio was female-biased (64%); however, the differences in sex distributions were not statistically significant. Neonates contained 22% of the strandings, and the age class 0 took 28%. One year old animals contained 13.5%. In total, almost half of the sample was presented the youngest age classes: which is an unusually high percentage. The oldest animal was 35 years old. In a few cases, an adult female was found near a neonate or a calf. A single pregnant female was recorded on May 21, 2012.

Four dolphins had marks, which could be interpreted as by-catch signs [16]. In addition, a dolphin with the marks of ship collision was found by E. Kushnir and K. Vishnyakova [17] in December 2008 in Nikolaevka.

Common dolphin *Delphinus delphis*

13 specimens were found during the study, 8 of them in 2011–2012. The findings came from all months, except winter (however, winter records of stranded animals were made by E. Gladilina on the neighbouring coast near Kacha). The most of animals were adult males. In general, no neonates or yearlings were found, and adults contained 70% of findings: their body length varied within 149–195 cm. No mass mortality events were recorded. No by-caught animals were found; however, two animals with the marks of ship collision were recorded, one in March 2011 by E. Kushnir and K. Vishnyakova, and another one in May 2012.

The ratio of numbers of recorded strandings of harbour porpoises, bottlenose dolphins and common dolphins is 10 : 3 : 1. This ratio is close to the data reported by Gol'din and Gol'din [10]: now harbour porpoises contain even a somewhat greater portion of strandings. The portion of harbour porpoises is substantially greater than reported by other studies in the northern Black Sea [5, 8, 9] and close to the data from the Turkish coast [7]. It can be explained by the better recovery rate of porpoise remains in our study and the study by Tonay et al. [7].

CONCLUSIONS

The coast of Kalamita Gulf is characterized by the unusually high rate of cetacean strandings (at least, 3 strandings per km per year, but possibly even twice higher). Harbour porpoises (71.5%), bottlenose dolphins (21%) and common dolphins (7.5%) were recorded during the period of observations. Harbour porpoises mainly stranded in June and July, while bottlenose dolphins uniformly occurred during the warm season with a slight peak in April. The greatest number of porpoise strandings fell on 2012, and

bottlenose dolphins on 2013. In the age structure of both species, neonates and calves (age class 0) and yearlings dominated which is an indirect evidence for population growth.

We sincerely thank E. A. Kushnir, L. Prenko, D. B. Startsev, I. A. Nurpeisov, M. P. Chopovdya and other colleagues who helped us in field excursions and reported cases for this study.

References

1. Peltier H. The significance of stranding data as indicators of cetacean populations at sea: Modelling the drift of cetacean carcasses / H. Peltier, W. Dabin, P. Daniel, O. Van Canneyt, G. Dorémus, et al. // Ecological Indicators. 2012. – 18. – P. 278–290.
2. Vishnyakova K. A. Multi-year dynamics and seasonality of cetacean strandings in the southern Sea of Azov / K. Vishnyakova, P. Gol'din // Abstract Book: 27th Annual Conf. European Cetacean Society. Interdisciplinary approaches in the study of marine mammals. – 2013. – Setúbal, Portugal. – P. 390.
3. Glazov D. M. Observations on dolphin strandings at the North Caucasian coast / D.M. Glazov, O.I. Lyamin // Marine mammals of the Holarctic. Proc. Int. Conf, 21-23 Sept. 2000, Arkhangelsk. – Pravda Severa – Arkhangelsk, 2000. – P. 87–90. In Russian
4. Gladilina E.V. Current status of cetaceans in the waters of Karadag Natural Reserve. / E. V. Gladilina, O.V. Kukushkin, P. E. Gol'din // Collection of Sci. Papers on 95th Anniversary of the Karadag Scientific Station and 30th Anniversary of Karadag Natural Reserve. – EKOSI-Gidrofizika. – Sevastopol, 2009. – P. 407–412. In Russian
5. Sergeyenko A.L. Observation on dolphin strandings on the southern coast of Crimea // Nauchnye Zapiski Prirodnogo Zapovednika Mys Martyan. – 2011. – 2. – P. 313-320. In Russian
6. Tonay, A.M. Unusual mass mortality of cetaceans on the coast of the Turkish Western Black Sea in summer 2009. / A.M. Tonay, A. Dede, A.A. Öztürk, D. Ercan, A. Fernandez // J. Black Sea Mediterranean Environment. – 2012. – 18. – P. 65-75.
7. Tonay A. Cetacean stranding records on the Turkish Western Black Sea coast during September 2010-September 2012 / A. Tonay, A. Dede, A.A. Öztürk // Abstract Book: 27th Annual Conf. European Cetacean Society. Interdisciplinary approaches in the study of marine mammals. – 2013. – Setúbal, Portugal. – P.389.
8. Birkun A.A. Strandings of neonate Black Sea harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) as a probable consequence of the nursing females' death in fishing gear / A.A. Birkun Jr., S.V. Krivokhizhin, V.Yu. Gridin, A.V. Zhanov, A.V. Zanin, I.V. Masberg // Marine Mammals of the Holarctic. Moscow: KMK, 2004. – P. 59–64.
9. Krivokhizhin S. V. Strandings of cetaceans on the coast of Ukraine (2002-2006) / S.V.Krivokhizhin, K.L.Balatskiy, S.G. Bushuev, Ya.A. Stolyarova, Z.V. Selyunina, et al. // Marine Mammals of the Holarctic. Odessa: Astroprint, 2008. – P. 300–303.
10. Gol'din E. B. Observations of cetaceans in the Calamita Gulf (Black Sea) and the adjoining sea area / E.B. Gol'din, P.E. Gol'din // Marine Mammals of the Holarctic. Moscow: KMK, 2004. – P. 163–167.
11. Gol'din P. E. Taphonomy of stranded small cetaceans: general aspects and impact of the coast / P.E. Gol'din, K.A. Vishnyakova, E.V. Gladilina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. Series Biology, chemistry. – 26 (65), 3. – P. 45–53
12. Gol'din P. E. Cetacean mass mortality events in the Sea of Azov and the Black Sea in 2013 / P. Gol'din, K. Vishnyakova, E. Gladilina, N. Litvinyuk // Zapovedniki Kryma, Abstr. Int. Conf. – Simferopol, 2013. – P. 309, 310. In Russian
13. Gol'din P. E. Growth and body size of the harbour porpoise *Phocoena phocoena* (Cetacea, Phocoenidae) in the the Sea of Azov and the Black Sea / P. E. Gol'din // Vestnik Zoologii. – 2004. – 38, 4. – P. 59-73.
14. Birkun A. Cetacean by-catches in the course of turbot and spiny dogfish fisheries in the northwestern Black Sea / A. Birkun, S. Krivokhizhin, I. Masberg, G. Radygin // Abstract Book. 23rd Annual Conf. European Cetacean Society. – 2009. – P. 15, 16.

15. Gladilina E.V. Winter distribution of cetaceans in the Black Sea and adjoining areas in 2012/2013 / E.V. Gladilina, Yu.N. Lyashenko, P.E. Gol'din // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series “Biology, chemistry”. – 2013. – Vol. 26(65), No 1. – P.37-42.
16. Gladilina E. V. New prey fishes in diet of Black Sea bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* (Mammalia, Cetacea) / E. V. Gladilina, P. E. Gol'din // Vestnik zoologii. – 2014. – 48(1). – P. 83-92.
17. Kushnir E. Collisions of dolphins with ships in the Black Sea waters of Crimea / E. Kushnir, K. Vishnyakova // Abstract Book: 25rd Annual Conf. European Cetacean Society. – Galway, 2012. – P. 304

Гольдин П. Е. Выбросы китообразных на побережье Каламитского залива (Черное море) / П.Е. Гольдин, К.Г. Кирух, К.А. Вишнякова, Е.В. Гладиллина // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С.55-61.

Приведены результаты программы мониторинга выбросов китообразных на юго-западном побережье Крыма: данные были собраны с 12-километровой полосы берега Каламитского залива (Черное море) между Новофедоровкой и Николаевкой в 2008–2013 годах. Всего было выявлено 186 выброшенных китообразных (134 морских свинок, 39 афалин и 13 обыкновенных дельфинов). Побережье Каламитского залива характеризуется необычайно высокой частотой выбросов (не менее 3 выбросов на км в год). Выбросы морских свинок преимущественно происходят в июне и июле (средняя дата (медиана) выбросов новорожденных – 28 июня), в то время как выбросы афалин равномерно распределяются в течение теплого сезона со слабым пиком в апреле. Наибольшее число выбросов морской свиньи отмечено в 2012 году, афалины – в 2013 году. В возрастной структуре обоих видов преобладают новорожденные с сеголетками (возрастной класс 0) и годовики, что служит косвенным доказательством роста популяций. Особенность исследованной выборки – наличие животных со следами столкновения с судном.

Ключевые слова: китообразные, морская свинья, афалина, обыкновенный дельфин, смертность, сезонная динамика.

Гольдин П.С. Викиди китоподібних на узбережжі Каламітської затоки (Чорне море) / П.С. Гольдин, К.Г. Кирух, К.О. Вишнякова, О.В. Гладіліна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 55-61.

Наведено результати програми моніторингу викидів китоподібних на південно-західному узбережжі Криму: дані були зібрані з 12-кілометрової смуги берега Каламітської затоки (Чорне море) між Новофедорівкою та Ніколаєвкою в 2008-2013 роках. Всього було виявлено 186 викинутих китоподібних (134 морських свині, 39 афалін і 13 звичайних дельфінів). Узбережжя Каламітської затоки характеризується надзвичайно високою частотою викидів (не менш ніж 3 викидів на км на рік). Викиди морських свинок переважно відбуваються в червні та липні (середня дата (медіана) викидів новонароджених – 28 червня), в той час як викиди афалін рівномірно розподіляються протягом теплого сезону зі слабким піком у квітні. Найбільше число викидів морської свині відзначено в 2012 році, афаліни – в 2013 році. У віковій структурі обох видів переважають новонароджені з цьогорічними (віковий клас 0) і годовики, що є непрямим доказом зростання популяцій. Особливість дослідженої вибірки – наявність тварин зі слідами зіткнення з судном.

Ключові слова: китоподібні, морська свиня, афаліна, звичайний дельфін, смертність, сезонна динаміка.

Поступила в редакцію 11.05.2014 г.

УДК [557.112.8:546.47] : 599.232.4 : 591.1

ВПЛИВ ХЕЛАТОРІВ НА КЛІТИНИ, ЯКІ МІСТЯТЬ ЦИНК, ЩО УТВОРЮЄ ХЕЛАТИ

Єщенко Ю.В.

*Запорізький національний університет, Запоріжжя, Україна
E-mail: vd.bovt@gmail.com*

Хелатори є стресорами. Особливістю впливу цитотоксичних хелаторів є пошкодження клітин, що містять цинк, що утворює хелати та порушення металолігандного гомеостазу. Було показано, що введенням цитотоксичних хелаторів тваринам можна моделювати патологічні стани, що пов'язані з порушенням механізмів металолігандного гомеостазу (епілептиформні судоми, цукровий діабет, імунодефіцит тощо). Загальною особливістю стресової реакції, що викликана введенням хелаторів є пошкодження клітин, що містять цинк, що утворює хелати із трьохфазною зміною його вмісту. Ця форма стрес-реакції була позначена як «хелатоз».

Ключові слова: клітини, цинк, що утворює хелати, хелатори, хелатоз.

ВСТУП

Хелатори – обширна група органічних сполук, що здатні утворювати із металами клешньовидні комплекси (хелати) [4, 10, 14, 15]. Вони широко застосовуються в промисловості, сільському господарстві, фармакології та медицині. Зв'язувати метали в хелатовані форми можуть багато фармакологічно активних речовин: антимікробні, протипухлинні, психотропні препарати та ін. До того ж хелаторами є антидоти, які застосовують для зв'язування та виведення з організму токсичних та радіоактивних елементів [3, 11].

Сполуки із вираженими хелаторними властивостями можуть утворюватись в самому організмі в результаті глибоких порушень обміну речовин, у зв'язку з чим все частіше обговорюється питання про їх можливу роль як патогенетичного фактору розвитку таких захворювань як цукровий діабет, шизофренія, хвороби Паркінсона та Альцгеймера [1, 2, 5, 12, 13, 16, 17, 20].

Цинк є одним з найважливіших мікроелементів в організмі людини та хребетних тварин. Він входить до активного центру більше ніж 300 металоферментів, бере участь у транскрипції генів, у процесах диференціації, росту та розвитку організму, у репродуктивних процесах, імунних реакціях тощо [21–23].

Варто зазначити, що цинк в організмі присутній в двох формах. Перша форма – міститься у всіх клітинах організму у вигляді міцно зв'язаних із біолігандами катіонів. Друга форма – так званий цинк, що утворює хелати, який міститься у секреторних гранулах ряду клітин (нейронах гіпокампу, аксозазальних синапсах гіпоталамусу, кортикотрофах гіпофізу, ендокриноцитах сітчастої зони наднирників, клітинах слинних залоз, В-клітинах підшлункової залози, клітинах Панета, клітинах

епітелію передміхурової залози, гранулоцитах крові) [1, 5, 9, 20, 22, 24, 25]. Фізіологічне значення цинку, що утворює хелати на даний час остаточно не встановлено, хоча не викликає сумніву той факт, що він відіграє важливі функції в цих клітинах, оскільки тяжкі порушення їх функцій завжди супроводжуються зменшенням в них вмісту цього мікроелементу [5-8, 19, 26, 27].

Метою нашої роботи було дослідження впливу хелаторів із цитотоксичною дією на клітини, що містять цинк, що утворює хелати.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У дослідах були використані нелінійні щури – самці, віком 10-12 міс, масою 263 ± 18 г. 120 тварин складала 3 дослідні групи, 30 – три контрольні. Тварини утримувались в умовах віварію, температура повітря складала 20-22 °С, світловий день – 8 годин, доступ до їжі та води – *ad libitum*.

Для отримання інтравітальної реакції хелаторів в нейронах гіпокампу, клітинах передміхурової залози, гранулоцитах крові та інших клітинах, що містять цинк, що утворює хелати тваринам дослідних груп (по 40 особин в кожній групі) внутрішньочеревно вводили хелатори в дозі: 8-БСХ – 200 і 400 мг/кг, 8-ТСХ – 200 мг/кг, дитизон – 100 мг/кг. В якості нехелатуючого пошкоджуючого агента, тропного до В-клітин підшлункової залози тваринам вводили розчин алоксану (200 мг/кг, підшкірно). Тваринам контрольних груп (також по 10 особин в групі) вводили воду для ін'єкцій тим самим способом і в тому об'ємі, як і тваринам дослідних груп.

Тварин у кількості 10 особин виводили із дослідження через 10 хв, 2, 8 та 24 год після введення речовин. Після декапітації під ефірним наркозом у тварин брали шматочки органів (гіпокампу, підшлункової залози, клубової кишки, передміхурової залози) та за допомогою заморожуючого мікротому робили зрізи 10 мкм завтовшки. Зрізи переносили на предметні скельця та забарвлювали високоселективним реагентом для визначення цинку – 0,01 % ацетоновим розчином 8-ТСХ [18]. Забарвлені препарати досліджували за допомогою люмінесцентного мікроскопу Люмам, оснащеного цифровою камерою при загальному збільшенні $\times 1000$. У клітинах спостерігали люмінесценцію комплексу 8-ТСХ з цинком жовто-зеленого кольору. Для цитофотометрії цифрових зображень препаратів клітин Панета використовували програму NIH ImageJ. Отримані дані про інтенсивність флуоресценції переводили в кількісну шкалу за допомогою калібрувальної кривої, яку отримували шляхом фотометрії серії стандартних розчинів комплексу 8-ТСХ із цинком відомих концентрацій. Результати вимірювань концентрації цинку, що утворює хелати в клітинах виражали у мкг/г стандартного розчину. Для проведення морфологічного аналізу тканину фіксували у 10% розчині формаліну. Фіксовану тканину за стандартною методикою заливали в парафінові блоки, з яких робили зрізи 10 мкм завтовшки. Зрізи наклеювали на предметні скельця, депарафінували та забарвлювали гематоксилін-еозіном.

Для статистичної обробки результатів досліджень використовували методи варіаційної статистики (середнє арифметичне, стандартне відхилення), порівняння вибірок (U-критерій Мана-Уїтні). Розрахунки проводили за допомогою пакету прикладних програм STATISTICA, версія 6.1.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Спочатку порівнювали вплив хелаторів та агентів нехелаторної природи. Для порівняльного аналізу впливу на клітини, що містять цинк, що утворює хелати цитотоксичного хелатору та цитотоксичного агенту нехелаторної природи було проведено дослідження, в якому тваринам вводили алоксан, який як відомо викликає селективне ушкодження В-клітин підшлункової залози. Порівняльний аналіз вмісту цинку в В-клітинах тварин які отримували алоксан та тварин які отримували дитизон наведені на рис. 1.

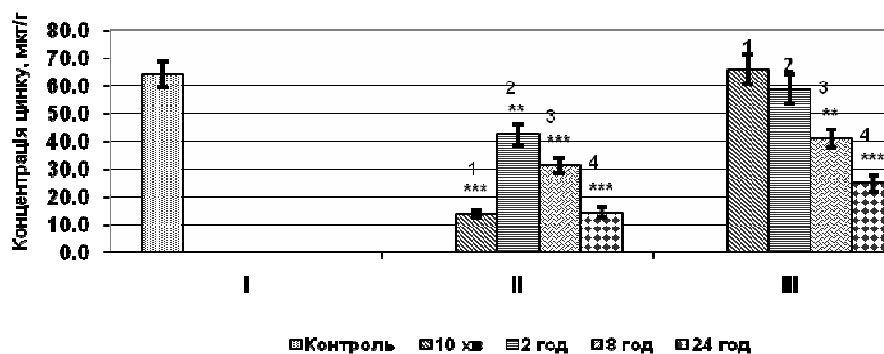


Рис. 1. Вміст цинку, що утворює хелати в В-клітинах підшлункової залози щурів після введення дитизону та алоксану: I – контроль; II – уведення дитизону в дозі 100 мг/кг; III – уведення алоксану в дозі 100-200 мг/кг; 1 – 10 хв після введення реагенту; 2 – 2 год після введення реагенту; 3 – 8 год після введення реагенту; 4 – 24 год після введення реагенту.

Морфологічна картина острівців підшлункової залози після введення алоксану дещо відрізнялась від тієї, що спостерігали при введенні хелаторів. В-клітини острівців тварин через 10 хвилин після введення алоксану не відрізнялись від таких у контрольних тварин. Перші незначні ознаки некрозу клітин виявлялися лише через 2 год. З часом ці зміни ставали більш вираженими, досягаючи максимуму на 24-ту год.

Зазначимо, що при введенні алоксану зовсім не спостерігаються фазні коливання цинку, концентрація якого в В-клітинах знижувалась в міру розвитку необоротних процесів, початок яких відмічався через 2 год після ін'єкції. Підвищення вмісту цинку на першій стадії можна пояснити підвищеною секрецією наднирковими залозами глюкокортикоїдів.

Порівняння впливу різних хелаторів (дитизону та 8-ТСХ) на клітини, що містять цинк, що утворює хелати (нейрони гіпокампу, клітини Панета, клітини простати та гранулоцити) наведені на рис. 2.

Морфологічні зміни клітин спостерігались вже після 10 хв після введення хелаторів. До них можна віднести збільшення та розпилення деяких цитоплазматичних гранул, підсиленням базофілії та метахроматичної реакції клітин, що вірогідно пов'язано із декомпартменталізацією лізосомально-сегрегаційного апарату.

ВПЛИВ ХЕЛАТОРІВ НА КЛІТИНИ, ЯКІ МІСТЯТЬ ЦИНК,...

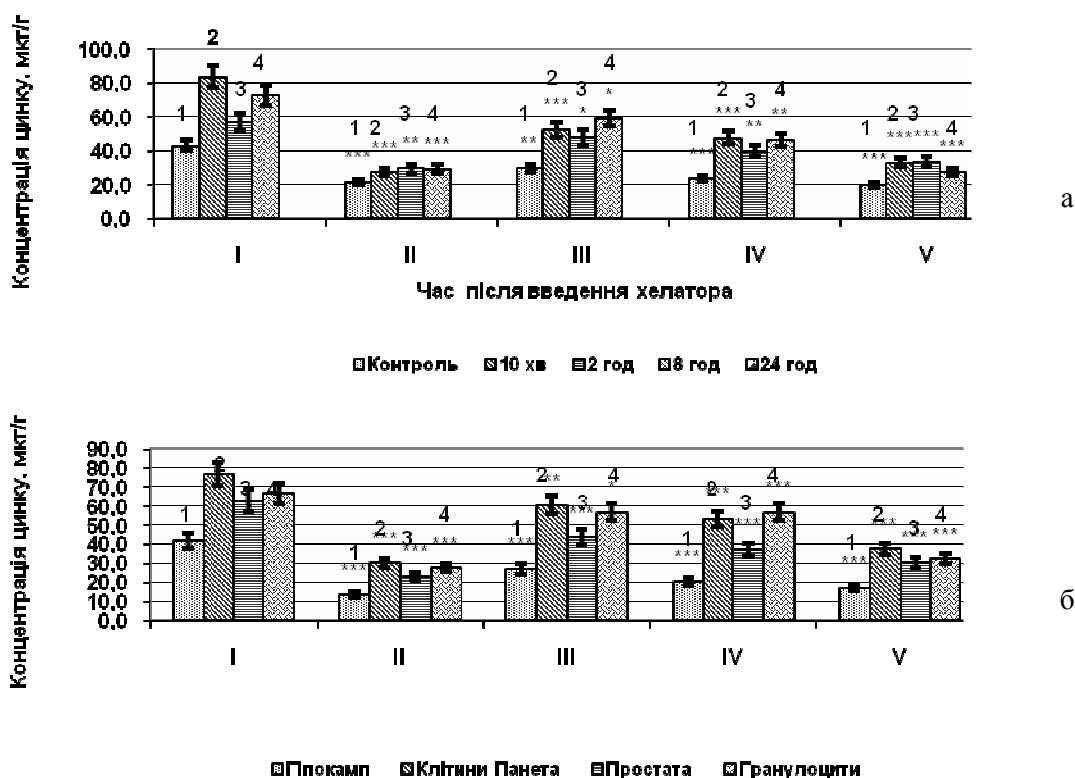


Рис. 2. Вміст цинку в клітинах що містять цинк, що утворює хелати після введення хелаторів: а – введення дитизону; б – введення 8-ТСХ; I – контроль; II – 10 хв після введення реагенту; III – 2 год після введення реагенту; IV – 8 год після введення реагенту; V – 24 год після введення реагенту

Початок некрозу відмічався через 2 год після введення хелаторів та характеризувався пікнозом, рексисом та лізисом ядер, зморщуванням цитоплазми. Максимум некротичних змін відмічався через 8 год після введення хелаторів. Деструктивні зміни в клітинах супроводжувались подальшим пошкодженням цитоплазматичних гранул, зменшенням їх кількості. В екзокринній частині підшлункової залози патологічних змін виявлено не було. При введенні води для ін'єкцій контрольним тваринам морфологічні зміни в клітинах острівців підшлункової залози не спостерігались.

Також було встановлено, що деякі хелатори викликають у тварин конвульсії, сила і тривалість яких обумовлена вмістом металів, що утворюють хелати у гіпокампі, а також таксоном особин (рис. 3). Найбільш виражені судоми виникають при введенні 8-БСХ. Конвульсивний ефект обумовлений інтравітальною реакцією хелаторів у глутаматергічних синапсах (рис. 3).

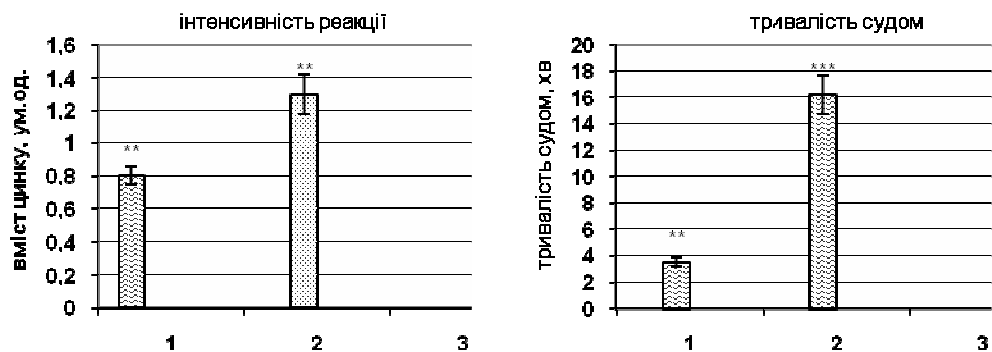


Рис. 3. Інтенсивність інтравітальної реакції 8-БСХ в гіпокампі у мишей і тривалість судом при введенні цитотоксичних (8-БСХ у дозах 200 і 400 мг/кг) і нецитотоксичних (ДЕДТКН у дозі 1000 мг/кг) хелаторів. 1 – введення 8-БСХ у дозі 200 мг/кг; 2 – введення 8-БСХ у дозі 400 мг/кг; 3 – введення ДЕДТКН у дозі 1000 мг/кг.

Як видно з наведеного рисунка, введення тваринам цитотоксичного хелатора 8-БСХ у дозах 200 і 400 мг/кг викликає різні, залежні від дози зміни вмісту цинку у нейронах гіпокампу. Простежується залежність інтенсивності інтравітальної реакції від дози реагенту, що вводиться. В той же час попереднє введення нецитотоксичного хелатора ДЕДТКН призводило до негативної реакції на цинк за допомогою реакції 8-ТСХ, що можна пояснити більш високою константою стабільності введеної речовини з даним металом. Розвиток судом відповідав змінам вмісту цинку в клітинах, що проявлялося у тривалості судом, які були більш виражені при введенні 8-БСХ у дозі 400 мг/кг у порівнянні з дозою 200 мг/кг. Уведення ДЕДТКН не викликало розвиток судом у тварин навіть при дозі 1000 мг/кг.

Таким чином, цитотоксичні хелатори здатні утворювати комплекси з металами не позбавляючи останні функціональної активності, що призводить до вивільнення нейромедіатора (глутамінової кислоти), даючи змогу не тільки провести збудження через синапс, а навіть посилити його, викликаючи епілептиформні судом. В той же час нецитотоксичні хелатори здатні утворювати комплекси з цинком, позбавляючи його функціональної активності і блокуючи вивільнення медіатора в синаптичній щілині. Таку властивість цитотоксичних хелаторів можна використовувати для моделювання епілептиформних судом в експерименті.

З даних наведених на рисунку 1 наочно можна простежити трьохфазну зміну вмісту цинку, що утворює хелати в клітинах: фаза первинного зниження його вмісту (через 10 хв після ін'єкції хелатора), фаза часткового її відновлення (через 2 год), фаза вторинного зниження вмісту цинку (через 24 год).

Первинне зниження вмісту цинку спостерігалось вже через 3 хв після введення хелатора, досягаючи свого максимуму на 10 хв. Розвиток цієї фази пов'язаний із інтравітальною реакцією хелаторів в клітинах.

Друга фаза (тимчасового відновлення вмісту цинку в клітинах) обумовлена здатністю неальтерованих цитоплазматичних гранул знову приєднувати іони цинку

після їх відщеплення хелатором. Напевне, накопичення цинку в клітинах пов'язано з ацидотропною дією хелаторів, що гальмує секреторну активність клітин.

Розвиток третьої фази (вторинного зниження вмісту цинку в клітинах) пов'язаний із розвитком в них необоротних деструктивних змін. Її початок фактично співпадає в часі із початком некрозу клітин. По мірі розвитку клітинного некрозу вміст цинку, що утворює хелати прогресивно знижується. Ці зміни неспецифічні, подібні фазам стресу.

Описані в третій фазі зміни вмісту цинку в клітинах також спостерігаються при дії нехелатуючих агентів на стадії викликаного ними некрозу клітин. Це говорить про те, що на стадії розвитку необоротних змін у клітинах вміст цинку в них змінюється таким же чином, як і при дії різних альтеруючих хелаторів. У зв'язку із цим порушення обміну цинку в клітинах, що викликаються хелаторами, можна відзначати на стадіях, які передують початку некрозу клітин, тобто на першій та другій фазах.

Таким чином, трьохфазні зміни вмісту цинку, що утворює хелати в клітинах – характерна ознака їх ураження хелаторами. Перші дві фази передують деструктивним змінам у клітинах острівців. При дії нехелатуючих агентів фазні коливання цинку до розвитку клітинного некрозу не спостерігалися. Ступінь вираженості першої та третьої фаз при введенні хелаторів залежить від дози хелатора та їх комплексоутворюючої здатності.

Втрату цинку клітинами слід розглядати як втрату їх життєздатності, негативна реакція на цинк – показник загибелі цих клітин. Відновлення вмісту цинку до його вихідного рівня свідчить про повне відновлення їх функції.

Порівнюючи зміни при введенні хелаторів в усіх досліджених органах виявлено однотипні зміни. Ці зміни допомагають визначити роль металів, що утворюють хелати у процесах адаптації та віднести хелатори до стресових чинників, виділити особливий вид клітинного ушкодження при їх дії, позначений нами як хелатоз. У залежності від переважаючого ураження відповідних видів клітин можна виділити декілька форм хелатозу: панкреатична, інтестинальна, з ураженням статевого апарату, імунодефіцитна.

Зміни у клітинах, що містять цинк, що утворює хелати при дії хелаторів зумовлені кількістю металів, що утворюють хелати у цих клітинах, дозою хелатора та його хелатуючими властивостями. Тяжкість ураження залежить від кількості металу, що утворює хелати: чим більша кількість, тим важче ураження. З огляду на вищевказане можна запропонувати наступну схему (рис. 4), що пояснює таке поняття як «хелатоз».

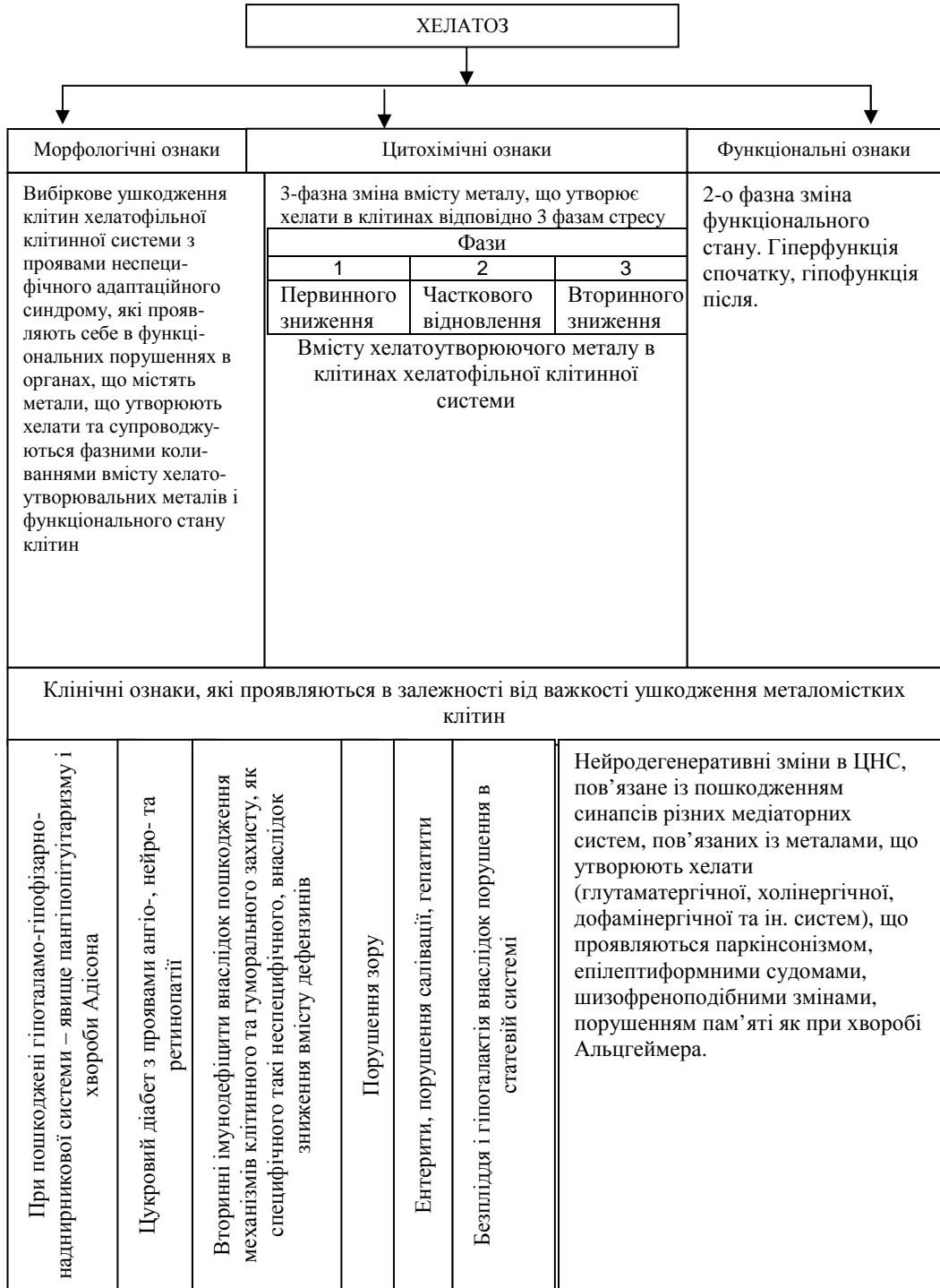


Рис. 4. Схема хелатозу.

ВИСНОВКИ

З отриманих результатів можна зробити наступні висновки

1. Виявлена особливість хелаторних пошкоджень клітин, що містять метали, що утворюють хелати – це вибіркова альтерація цих клітин з розвитком трифазних коливань вмісту металів у клітинах, які подібні до фаз стресу, що дає можливість для виділення особливої форми клітинного ушкодження, яку пропонується позначати терміном «хелатоз».
2. Хелатори-хромофори можуть застосовуватись для досить достовірного моделювання патологічних процесів (цукровий діабет, епілепсія, шизофренія, хвороба Альцгеймера, ентеропатія, ретинопатія, гіполітуарізм та інші) які пов'язані з порушенням функціонування органів, в яких є клітини, що містять метали, що утворюють хелати. Також при цих станах потрібна корегуючи терапія ліками, що містять цинк.

Список літератури

1. Гольдберг Е.Д. Сахарный диабет. Этиологические факторы / Гольдберг Е.Д., Ещенко В.А., Бовт В.Д. – Томск : изд-во Томского ун-та. – 1993. – 135 с.
2. Иванчев Г. Дитизон и его применение / Иванчев Г. – М.: ИЛ, 1961. – 450 с.
3. Подымов В.К., Молекулярные основы лигандной патологии и хелатной фармакологии / В.К. Подымов, С.П. Гладких, Л.А. Пирузян // Хим.-фарм. журн. – 1982. – № 1. – С. 9-14.
4. Принципы изучения болезней предположительно химической этиологии и их профилактика / ВОЗ. – Офіційне видання. - Женева: ВОЗ, 1990. – 75 с.
5. Альберт А. Избирательная токсичность / Альберт А. – М.: Медицина, 1998. – 432 с.
6. Крисс Е.Е. Координационные соединения в медицине / Крисс Е.Е., Волченкова А.Н., Григорьева А.С. – К.: Наукова думка, 1986. – 216 с.
7. Авцын А.П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / [А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова] – М. : Медицина, 1998. – 496 с.
8. Акбаров А.Б. Бионеорганическая химия металлов, аминокислот и биокомплексонов / А.Б. Акбаров, Ю.Я. Харитонов– Ташкент, 1994. – 346 с.
9. Кудрин А.В. Микроэлементы в неврологии / А.В. Кудрин, О.А. Громова – М.: ГЭОТАР-Мед, 1998. – 496 с.
10. Скворцов И.А. Об эффективности лечебного применения комплексонов при некоторых заболеваниях экстрапирамидной системы у детей / И.А. Скворцов, Г.Е. Руденская, А.Н. Карасева // Журн. невропатол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 1987. – № 10. – С. 1457-1462.
11. Радбиль О.С. Цинк в норме и при патологических состояниях / О.С. Радбиль // Вопросы питания. - 1981. - №6. - С. 63 - 70.
12. Райцес В.С. Нейрофизиологические основы действия микроэлементов / Райцес В.С. - Л.: Медицина, 1981. - 152 с.
13. Armstrong C. Comparative effects of metal chelating agents on the neuronal cytotoxicity induced by copper, iron and zinc in the hippocampus / C. Armstrong, W. Leong, G.J. Lees // Brain Res. – Vol 892, № 1. – P. 51-62 (2001).
14. Auld D.S. Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites / D.S. Auld // Biometals. – Vol. 14. – P. 271-313 (2001).
15. Bettger W.T. A critical physiological role of zinc in structure and function of biomembranes / W.T. Bettger, L.L. O'Dell // Life Sci. - Vol. 28. - P. 1404–1438 (1981).
16. Blalock J.E. On the evolution of ligands: did peptides functionally precede metals and small organic molecules / J.E. Blalock // Cell. Mol. Life Sci. - Vol. 55. – P. 513-518. (1999).
17. Єщенко Ю.В. Стрес і метаболізм металів: монографія / Єщенко Ю.В. – Запоріжжя : ЗНУ, 2010. – 286 с.

18. Cuajungco M.P. Zinc metabolism in the brain: relevance to human neurodegenerative disorders. / M.P. Cuajungco, G.J. Lees // *Neurobiol. Dis.* – 1997 – Vol. 4. – P. 137-169.
19. Eshchenko J.V. Zinc chelator injuring action / J.V. Eshchenko, V.A. Eshchenko, V.D. Bovt, J.V. Eshchenko // *Фізіологічний журнал* – 2008. – №1. – С. 94-95.
20. Ещенко Ю.В. Повреждающее действие дитизона на гранулоциты крови и базальные отделы кишечных крипт / Ю.В. Ещенко, В.А. Ещенко, В.В. Новицкий, В.Д. Бовт // *Бюл. сибир. медицины.* – 2010. - № 5. – С. 24-28.
21. Торопцев И.В. Исследование токсического действия хелантов на гиппокамп у животных / И.В. Торопцев, В.А. Ещенко // *Фармакология и токсикология.* – 1982. – № 6. – С. 82-84.
22. Громова О.А. Нейрохимия макро- и микроэлементов / О.А. Громова, А.В. Кудрин– М. : Алев-В, 2001. – 174 с.
23. Ещенко Ю.В. Влияние дитизона на содержание цинка в клетках Панета / Ю.В. Ещенко, В.А. Ещенко, В.Д. Бовт // *Бюллетень сибирской медицины.* – 2010. - № 2. – С. 56-59.
24. Ещенко Ю.В. Действие хелатирующих агентов на предстательную железу у крыс / Ю.В. Ещенко, В.В. Новицкий, В.А. Ещенко, В.Д. Бовт // *Бюл. сибир. медицины.* – 2010. - № 3. – С. 65-68.
25. Eshchenko J.V. Zinc chelator inquiring action to insulin producing cells / J.V. Eshchenko, T.V. Beregova, V.D. Bovt // *V International congress of cell injury (Yalta, 2008).* – P. 75.
26. Goldberg E.D. Diabetogenic activity of chelators in some mammalian species / E.D. Goldberg, V.A. Eshchenko, V.D. Bovt // *Endocrinology.* – 1990 – Vol.28, №2. - P. 51-55.
27. Серебрякова Г.В. Исследование ряда 8-(аренсульфониламино)-хинолинов как реагентов для люминесцентного определения цинка и кадмия / Г.В. Серебрякова, И.А. Красавин, Е.А. Божевольнов, Г.В. Серебрякова // *Химические реактивы и препараты.* – 1964. – Вып. 36. – С. 97-108.

Ещенко Ю.В. Влияние хелаторов на клетки, содержащие хелатообразующий цинк / Ещенко Ю.В. // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С.62-72.

Хелаторы являются стрессорами. Особенность влияния цитотоксических хелаторов – это повреждение клеток содержащих цинк, образующий хелаты, что вызывает нарушение металлолигандного гомеостаза. Показано, что введение цитотоксических хелаторов животным, даёт возможность моделировать патологические состояния, вызывающие нарушения механизмов металлолигандного гомеостаза (эпилептиформные судороги, сахарный диабет, иммунодефициты). Общей особенностью стрессовой реакции, вызываемой введением хелаторов является повреждение цинксодержащих клеток с трёхфазным изменением его содержания. Эти факторы стрес-реакции нами были названы «хелатозом».

Ключевые слова: клетки, хелатообразующий цинк, хелаторы, хелатоз.

THE INFLUENCE OF CHELATORS ON THE CELLS CONTAINING CHELATE-CREATING ZINC

Eshchenko Y.V.

*Zaporizhzhya National University, Zaporozhye, Ukraine
E-mail: vd.bovt@gmail.com*

Chelators are a large group of organic compounds creating chelated complexes (chelates) with metals. Chelators are widely used in the industrial medicine, agriculture, pharmacology. The compounds with these characteristics may be created in the organism as a result of diseases and some pathological states (diabetes, schizophrenia, Parkinson disease and Alzheimer disease). So metals are the part of numerous vital compounds (nucleic acids, enzymes, hormones) for all living creatures, it is necessary to define the way how chelators affect metal-ligand homeostasis.

To solve this task, for the research the cells containing chelate-creating zinc were selected. It has been done due to the fact that there are a number of such kinds of cells in the organism (endocrinocytes of hypothalamus, of hypophysis, of pancreas, blood granulocytes, neurons of hippocampus and retina, Paneth cells in intestines, epithelium of salivary and prostate gland). Also this metal is identified with the help of dyes which may be injected in animals organism (rats in this case) intravitally. The level of impact is determined through the dosing amount of some substance. As chelators dithizone (it shows a semi-quantitative reaction with zinc) and 8-(p-toluenesulfonilamino)-quinoline (8-TCX, it shows quantitative determination of zinc in cells but not in a certain size of tissues) were selected. To compare the impact of chelators and the substances of the other nature alloxan was chosen because its effects on cells containing chelate-creating zinc is entirely similar according to the results of dithizone and 8-TCX effects, but it is different in mechanism.

The results of the research are the following: during the similar morphological changes in the analyzed cells, the changes in zinc content in the cells under the influence of chelator occur in three phases, but under the influence of non-chelate substances these changes occur in two phases only. Morphological changes of zinc content in cells do not depend on the chelator nature. All cells containing zinc have simultaneous and similar changes, this fact proves the nonspecificity of reaction. Functional changes in experimental animals organisms coincide clinical phenomena of diseases connected with injury of a particular organ .

As the result of these data the following conclusions have been made:

1. The peculiarity of chelator damage of the cells containing chelate-creating metals is selective damage of these cells with the development of three-phase fluctuations of the metal content in these cells, which are similar to stress phases. Due to this fact it is possible to determine a special form of the cell damage which is suggested to define the term "chelatosis".
2. Chelators-chromophores can be used for the precise modeling of pathological processes that are the result of metal-ligand homeostasis infringements, as well as after chelators action.
3. As the correcting therapy for these diseases (diabetes, epilepsy, schizophrenia, retinopathy, enteropathy, immunodeficiency, hypopituitarism, etc.) the medicines containing chelate-creating metals in the form of an organic complex (zinc in this case) must be used.

Keywords: cells, chelate-creating zinc, chelators, chelatosis.

References

1. Goldberg E.D. Diabetes. Etiological factors. Tomsk: publishing House of Tomsk University (1993).
2. Ivanchev G. Dithizone and its application. Moscow: IL (1961).
3. Podymov V.K. Molecular basis of ligand pathology and chelate pharmacology. *Journal of Chemistry and Pharmacology* (1982).
4. Auld D.S. Zinc coordination sphere in biochemical zinc sites. *Biometals*. – 14, 271 (2001).
5. Albert A. Selective toxicity - M.: Medicine. - 432 p. (1998)
6. Criss E.E., Volchenskova A.N., Grigorieva A.C. Coordination compounds in medicine - Kiev: Naukova dumka. - 216 p. (1986)
7. Avtsyn A.P. Human microelementoses: etiology, classification, organopathology - M.: Medical. - 496 p. (1998)
8. Akbarov A.B. Bioinorganic chemistry of metals, amino acids and biocomplexons – Tashkent. - 346 p. (1994).
9. Kudrin A.V., Gromova O.A. Micronutrients in neurology. - M.: GEOTAR-med. –304 p. (2006).

10. Skvortsov I.A., Rudenskaya G.E., Karaseva A.N. About the effectiveness of therapeutic application of complexons in some diseases of the extrapyramidal system of children. *Journal of Neuropathology and Psychiatry after S.S. Korsakov*. - № 10. - P. 1457-1462. (1987).
11. Bettger W.T., O'Dell L.L. A critical physiological role of zinc in structure and function of biomembranes. *Life Sci.* - Vol. 28. - P. 1404-1438 (1981).
12. Blalock J.E. On the evolution of ligands: did peptides functionally precede metals and small organic molecules. *Cell. Mol. Life Sci.* – Vol. 55. – P. 513-518 (1999).
13. Eshchenko J.V., Beregova T.V., Bovt V.D. Zinc chelator inquiring action to insulin producing cells. V International congress of cell injuiry, Yalta (2008).
14. Goldberg E.D., Eshchenko V.A., Bovt V.D. Diabetogenic activity of chelators in some mammalian species. *Endocrinology*. - Vol.28, №2. - P. 51-55. (1990).
15. Principles of study of diseases of suspected chemical etiology and their prevention // WOZ. - Geneva: WOZ. - 75 p. (1990).
16. Radbil' O.S. Zinc in norm and in pathological conditions. *Issues of Nutrition*. - № 6. - P. 63 - 70. (1981).
17. Eshchenko Y.V. Stress and metabolism of metals: monography. Zaporizhzhja: Zaporizhzhja National University. - 286 p. (2010).
18. Raytse B.C. Neurophysiological basis of the effect of micronutrients - L.: Medicine. - 152 p. (1981).
19. Serebryakova G.V., Krasavin I.A., Bozhevol'nov E.A. Research of series 8-(arensulfonilamino)-quinolines as reagents for luminescence determination of zinc and cadmium. *Chemical reagents and medicines*. - Vol. 36. - P. 97-108. (1964).
20. Gromov O.A., Kudrin A.V. Neurochemistry of macro- and micronutrients - M.: Alev-V. - 174 p. (2001).
21. Eshchenko Y.V., Eshchenko V.A., Bovt V.D. Effect of dithizone on the zinc content in Paneth cells. *Bulletin of Siberian Medicine*. - № 2. - S. 56-59. (2010).
22. Eshchenko Y.V., Novitskyj V.V., Eshchenko V.A., Bovt V.D. Effect of chelating agents on the prostate gland of rats . *Bulletin of Siberian Medicine*. - № 3. - S. 65-68. (2010).
23. Eshchenko Y.V., Eshchenko V.A., Novitskyj V.V., Bovt V.D. Damaging effect of dithizone on blood granulocytes and basal intestinal crypts. *Bulletin of Siberian Medicine*. -. - № 5. - S. 24-28. (2010).
24. Toroptsev I.V., Eshchenko V.A. Research of toxic impact of chelants on animals hippocampus. *Pharmacology and Toxicology*, № 6. - S. 82-84. (1982).
25. Goldberg E.D., Eshchenko V.A., Bovt V.D. Diabetogenic activity of chelators in some mammalian species. *Jorn. of endocrinology*, 28/2, 61 (1990).
26. Cuajungco M.P., Lees G.J. Zinc metabolism in the brain: relevance to human neurodegenerative disorders. *Neurobiol. Dis.* – 1997. – Vol. 4. – P. 137-169.

Поступила в редакцию 26.04.2014 г.

УДК 577.112:612

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА И ПРОЦЕССОВ НИТРОЗИЛИРОВАНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ

Ёлкина Н.М.¹, Коношенко С.В.²

¹Крымский факультет Запорожского национального университета, Симферополь, Республика Крым, Российская Федерация

²Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Республика Крым, Российская Федерация
E-mail: nataleiolkina@gmail.com

Показано, что в эритроцитах больных железодефицитной анемией осуществляются изменения в системе синтеза оксида азота, ведущие к преобладанию неокислительного, аргиназного метаболизма над окислительным метаболизмом L-аргинина и к повышению уровня нитрат-анионов.

Вместе с этим, прослеживается увеличение содержания в эритроцитах высокомолекулярных продуктов нитрозилирования и снижение содержания низкомолекулярных нитрозотиолов.

Ключевые слова: эритроциты, система синтеза оксида азота, NO-синтазы, NO-анионы, аргиназа, низкомолекулярные и высокомолекулярные нитрозотиолы, железодефицитная анемия.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что многие заболевания характеризуются развитием окислительного стресса в результате нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия и усиленного протекания свободно-радикальных реакций с участием активных форм кислорода [1-3].

Вместе с этим, за последние годы накопилось достаточно много данных, свидетельствующих о тесной взаимосвязи продукции свободных радикалов кислорода и оксида азота [4]. Имеются данные о том, что оксид азота (NO) является одним из универсальных регуляторов физиологических функций организма с достаточно широким спектром биологического действия [5]. Так, известно, что в оптимальных концентрациях NO улучшает эндотелиальную функцию периферических сосудов, положительно влияет на активность отдельных протеинкиназ, способен ингибировать каспазы, угнетать индукцию апоптоза [6, 7]. Однако, синтез оксида азота в повышенных концентрациях, превышающих допустимый стационарный уровень, может быть причиной развития нитрозативного стресса, обусловленного образованием активных форм азота, прежде всего, пероксинитрита и продукта его дегградации диоксида азота [4].

Одним из маркёров нитрозативного стресса рассматривается образование низкомолекулярных и высокомолекулярных нитрозотиолов, в частности, продуктов нитрозилирования протеинов [4].

Ранее было показано, что при железодефицитной анемии в эритроцитах усиливаются реакции перекисного окисления липидов и метгемоглибинообразование [8]. Учитывая это и то, что при ряде заболеваний в патологический процесс вовлекаются эритроциты [8, 9], представляло интерес изучить отдельные показатели системы синтеза оксида азота и процессов нитрозилирования в эритроцитах больных железодефицитной анемией, что и составило цель настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (25 доноров станции переливания крови) и больных железодефицитной анемией (20 человек, средний возраст 48,0 лет). В каждой обследованной группе соотношение мужчин и женщин было приблизительно одинаковым. Кровь больных брали на базе Крымского онкологического центра при поступлении в стационар, перед началом лечения.

Гемолиз эритроцитов осуществляли в равном объеме дистиллированной воды, взяв за основу метод Дробкина [10]. Состояние системы синтеза оксида азота оценивали, изучая показатели гемолизатов, характеризующие интенсивность неокислительного (аргиназного) и окислительного (NO-синтазного) метаболизма L-аргинина. Интенсивность неокислительного метаболизма L-аргинина оценивали, определяя активность аргиназы [11]. Интенсивность окислительного превращения аргинина, сопровождающегося синтезом оксида азота *de novo*, оценивали, изучая активность изоэнзимов NO-синтаз – кальций-зависимой, конститутивной (cNOS) и кальций-независимой, индуцибельной (iNOS) синтазы [12].

Процентную долю активности cNOS (% cNOS) относительно суммарной активности NO-синтаз определяли по формуле:

$$\% \text{ cNOS} = \text{cNOS} \cdot 100\% / \text{суммарная активность NOS.}$$

Наряду с этим, в гемолизатах эритроцитов определяли содержание стабильных метаболитов оксида азота – нитрит-анионов (NO_2^-) и нитрат-анионов (NO_3^-) [13].

Процессы нитрозилирования оценивали, определяя содержание низкомолекулярных и высокомолекулярных нитрозотиолов [14].

Использовали спектрофотометрические методы биохимического анализа.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований, в эритроцитах больных железодефицитной анемией существенно снижается интенсивность конститутивного синтеза оксида азота. Активность кальций-зависимой, конститутивной синтазы оксида азота была на 62,0% меньше по сравнению с контрольной группой доноров (таблица). Интенсивность индуцибельного синтеза оксида азота была значительно больше. Активность кальций-независимой NO-синтазы увеличивалась на 86,0% по сравнению с контрольной группой. Доля

физиологического конститутивного синтеза оксида азота в эритроцитах практически здоровых людей составляла, в среднем, 66% от суммарного синтеза оксида азота, тогда как у больных железодефицитной анемией наблюдалось выраженное снижение данного показателя – до 28,0%.

Поскольку субстратом для NO-синтаз является L-аргинин представляло интерес дать оценку неокислительного метаболизма этой аминокислоты, превращающейся под действием энзима аргиназы до мочевины и орнитина.

При изучении активности аргиназы было установлено, что в эритроцитах больных железодефицитной анемией данный показатель возрастал в 3,6 раза по сравнению с контрольной группой. Этот факт является свидетельством активизации неокислительного, аргиназного метаболизма, который конкурирует с окислительным NO-синтазным метаболизмом L-аргинина.

Соотношение неокислительного и окислительного метаболизма L-аргинина (Arg/NOS) достоверно увеличивалось в эритроцитах больных: в 4,0 раза по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о преобладании неокислительного метаболизма L-аргинина над окислительным, который ведет к образованию оксида азота.

Изучение пулов стабильных метаболитов оксида азота показало, что их содержание в эритроцитах больных претерпевает некоторые изменения. Так, содержание нитрат-анионов (NO_3^-) возросло на 37% по сравнению с контрольной группой, тогда как содержание нитрит-анионов (NO_2^-) практически не менялось. Эти данные могут свидетельствовать об активизации процессов окисления оксида азота и ограничении использования NO_3^- - анионов в метаболических процессах.

Изучение содержания в эритроцитах низкомолекулярных и высокомолекулярных продуктов нитрозилирования показало, что у больных железодефицитной анемией наблюдается достаточно выраженное увеличение уровня высокомолекулярных нитрозотиолов (ВМНТ): в 3,0 раза по сравнению с контрольной группой.

Содержание низкомолекулярных нитрозотиолов (НМНТ), в отличие от ВМНТ, снижалось (на 26,5% по сравнению с контрольной группой).

Поскольку одним из основных представителей низкомолекулярных нитрозотиолов является нитрозоглутатион [4], можно предположить, что при железодефицитной анемии в эритроцитах реализуется механизм высвобождения глутатиона из процессов нитрозилирования для более активного его использования в восстановительных реакциях.

Вместе с этим, существенное увеличение содержания в гемолизатах эритроцитов больных высокомолекулярных нитрозотиолов свидетельствует об активном протекании процессов, ведущих к образованию продуктов нитрозилирования протеинов, главным образом, гемоглобина, на долю которого приходится основное содержание в эритроцитах.

Учитывая, что оксид азота способен конкурировать с кислородом за связь с Fe^{2+} гемовой группы, можно было бы оценивать нитрозилирование гемоглобина по гему

как один из механизмов регуляции его сродства к кислороду, образования оксигенированной формы.

Таблица

Показатели системы синтеза оксида азота и процессов нитрозилирования в эритроцитах при железодефицитной анемии (ЖДА) (процентная доля относительно показателя контрольной группы^{*}); M±m

Показатели	Обследованные группы	
	Контрольная группа	Больные ЖДА
cNOS	100 ± 15,0	38,0 ± 5,5 ^{**}
iNOS	100 ± 16,4	186,2 ± 24,6 ^{**}
% cNOS	66,3 ± 6,4	28,1 ± 2,9 ^{**}
Аргиназа	100 ± 8,0	360,0 ± 55,0 ^{**}
Arg/NOS	100 ± 17,0	410,0 ± 65,3 ^{**}
NO ₂ ⁻	100 ± 18,0	94,2 ± 8,0 ^{**}
NO ₃ ⁻	100 ± 16,0	137,0 ± 13,2 ^{**}
НМНТ	100 ± 11,3	73,5 ± 9,6 ^{**}
ВМНТ	100 ± 13,5	302,0 ± 28,0 ^{**}

* – контроль – 100%;

** – достоверность отличия показателя относительно контрольной группы (p<0,05).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при железодефицитной анемии в эритроцитах осуществляются метаболические перестройки, связанные с системой синтеза оксида азота и ведущие к преобладанию интенсивности неокислительного, аргиназного метаболизма над интенсивностью окислительного, NO-синтазного метаболизма L-аргинина.

Изменения в системе синтеза оксида азота и в образовании низкомолекулярных и высокомолекулярных нитрозотиолов в эритроцитах больных железодефицитной анемией могут иметь определенное значение, влияя на генерирование активных форм азота и уровень свободного глутатиона, а также на функциональное состояние эритроцитарных протеинов, участвующих в процессах нитрозилирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В эритроцитах больных железодефицитной анемией осуществляются изменения в системе синтеза оксида азота, ведущие к преобладанию неокислительного, аргиназного метаболизма над окислительным, NO-синтазным метаболизмом L-аргинина, а также к повышению уровня NO₃⁻-анионов.
2. При железодефицитной анемии в эритроцитах изменяется соотношение низкомолекулярных и высокомолекулярных продуктов нитрозилирования: существенное увеличение содержания высокомолекулярных нитрозотиолов

сочетается с некоторым уменьшением содержания низкомолекулярных нитрозотиолов.

3. Изменения в системе синтеза оксида азота в эритроцитах при железодефицитной анемии могут иметь определенное значение, оказывая влияние на генерирование активных форм азота и поддержку уровня свободного глутатиона.

Список литературы

1. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Укр. біохім. журн. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
2. Меньщиков Е.Б. Окислительный стресс при воспалении / Е.Б. Меньщиков, Н.К. Зенков // Усп. совр. биол. – 1997. – Т. 117, № 2. – С. 155-169.
3. Меньщиков Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньщиков, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин // Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
4. Сагач В.Ф. Пригнічення оксидативного та нітрозативного стресу як механізм кардіо- і вазопротекторної дії екдистерону за умов експериментального цукрового діабету I типу / В.Ф. Сагач, Ю.П. Коркач, А.В. Коцюруба, О.Д. Присяжна // Фізіол. журн. – 2008. – Т. 54, № 5. – С. 46-54.
5. Аكوпова О.В. Оксид азоту пригнічує відкриття мітохондріальної пори і збільшує кальцієву ємність мітохондрій in vivo / О.В. Аكوпова, А.В. Коцюруба, Ю.П. Ткаченко, В.Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 2005. – Т. 51, № 3. – С. 3-11.
6. Ping P. Isoform-selective activation of protein kinase C by nitric oxide in the heart of conscious rabbits: a signaling mechanism for both nitric-oxide-induced and ischemia-induced preconditioning / P. Ping, H. Takano, J. Zhang et al // Circulat. Res. – 1999. – V. 84. – P. 587-604.
7. Li J. Nitric oxide suppresses apoptosis via interrupting caspase activation and mitochondrial dysfunction in cultured hepatocytes / J. Li, C.A. Bombeck, S. Yang, Y.M. Kim, T.R. Billiar // J. Biol. Chem. – 1999. – V. 274. – P. 17325-17333.
8. Ёлкина Н.М. Энзиматическая активность эритроцитов человека при ишемической болезни сердца в условиях развития окислительного стресса / Н.М. Ёлкина, С.В. Коношенко, И. Шашуа // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – Серия: Биология, химия. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 124-128.
9. Новицкий В.В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком легкого и с опухолями головы и шеи / В.В. Новицкий, В.Е. Гольберг, М.В. Колосова и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1999. – Прил. 1. – С. 18-20.
10. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. biochem. – 1949. – V. 21. – P. 224-226.
11. Шугалей В.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклиматизации к холоду / В.С. Шугалей, А.С. Козина // Физиол. журн. СССР. – 1977, № 8. – С. 1199-1202.
12. Chin S.Y. Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats / S.Y. Chin, K.N. Pandey, S.J. Shi et al // Amer. J. Physiol. – 1999. – V. 277, N 5. – P. 797-804.
13. Green L.L. Analysis of nitrate, nitrite and [N¹⁵]-nitrate in biological fluids / L.L. Green, D.A. Wagner, J. Glogowski et al // Anal. Biochem. – 1982. – V. 126, N 1. – P. 131-138.
14. Gerdal D. Inhibition of the catalytic activity of alcoholdehydrogenase by NO is associated with S-nitrosylation and the release of zinc / D. Gerdal, A.J. Cederbaum // Biochemistry. – 1996. – V. 35, N 50. – P. 16186-16194.
15. Villa Bianca R. Sphingosine 1-phosphate induced endothelial nitric-oxide synthase activation through phosphorylation in human corpus cavernosum / R. Bianca Villa, R. Sorrentino, C. Imbimbo et al // J. Pharmacol. Exp. Therap. – 2006. – V. 316, N 2. – P. 703-708.

Йолкіна Н.М. Особливості системи синтезу оксиду азоту і процесів нітросилування в еритроцитах за залізодефіцитній анемії / Н.М. Йолкіна, С.В. Коношенко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 73-79.

Показано що в еритроцитах хворих на залізодефіцитну анемію відбуваються зміни у системі синтезу оксиду азоту, що веде до переваги неокисного, аргіназного метаболізму над окисним метаболізмом L-аргініну і до збільшення рівня нітрат-аніонів.

Разом із тим, спостерігається збільшення вмісту в еритроцитах високомолекулярних продуктів нітросилування і зниження вмісту низькомолекулярних нітрозотіолів.

Ключові слова: еритроцити, система синтезу оксиду азоту, NO-синтази, NO-аніони, аргіназа, низькомолекулярні і високомолекулярні нітрозотіоли, залізодефіцитна анемія.

PECULIARITIES OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS SYSTEM AND PROCESSES OF NITROSYLATION IN ERYTHROCYTES UNDER IRON- DEFICIENCY ANEMIA

Yolkina N.M.¹, Konoshenko S.V.²

¹*Crimea faculty of Zaporogie National University, Simferopol, Crimea Republic, Russia*

²*Tavrida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia*

E-mail: nataleiolkina@gmail.com

Elucidation of the molecular basis of various diseases and pathological states of human organism is one of the most significant problems of medicine and biology [1-3]. It is known, that the ways of production of free radicals of oxygen and nitric oxide are closely binded [4]. The synthesis of nitric oxide over standard level may causes nitrosative stress, that is binded with active forms of nitric oxide, for example, peroxinitrite and nitric dioxide [4]. The formation of nitrosothiols is one of the markers of nitrosative stress also [4, 5]. Given that under some diseases erythrocytes are involved in pathological process [6, 7], the aim of the present work was to study the indexes of the system of nitric oxide synthesis and nitrosylation in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia.

The materials for the study were the erythrocytes of healthy subjects (control group) and patients with iron-deficiency anemia (20 patients, middle age – 48 years). The blood was taken in Crimean Oncological Centre before treatment for an illness. The erythrocytes were hemolised by distilled water. In hemolysates of erythrocytes was determined the content of NO-anions (NO_2^- and NO_3^-) [8], low-molecular and high-molecular products of nitrosylation [9] and the activity of arginase [10], cNOS and iNOS [11]. For studing all indexes the spectrofotometric methods of biochemical analysis were used.

It has been shown, that in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia the system of nitric oxide synthesis is changed. The metabolism of L-arginine by arginase prevails over oxidative metabolism with NO-synthesis (was 300% higher as compared with control group). The activity of Ca^{2+} -dependent NO-synthase was lowered (62,0 % less as compared with control group). The activity of Ca^{2+} -independent nitric oxide synthase was rised (86,0% higher as compared with control group). The accumulation of NO_2^- -anions in erythrocytes of patients was on the level of control group. The content of NO_3^- was

more as compared with control group (37,0%, accordingly). The level of low-molecular products of nitrosylation was 26,5% less as compared with control group. It is known that nitroglutathione is one of the main low-molecular products of nitrosylation [4]. The lowering of the content of low-molecular products in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia may be as index of releasing of glutathione from processes of nitrosylation for it more active utilization in reductive reactions.

At the same time, the content of high-molecular products of nitrosylation was risen (200,0% higher as compared with control group). So far as the high-molecular products are, in the main, nitrosylated proteins, these changes in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia may have certain influence on structural-functional state of erythrocytes proteins, in particular, of haemoglobin. It is known, that nitric oxide may be connected with haem iron and to prevent oxygenation of haemoglobin.

The changes that are observed in the system of nitric oxide synthesis in erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia may have influence on generation of nitric active forms and the level of reduced glutathione also.

Thus, under iron-deficiency anemia the metabolic changes are realized in erythrocytes, the development of nitrosative stress is accompanied by realization of some compensative reactions.

Keywords: erythrocytes, system of nitric oxide synthesis, arginase, NO-synthases, NO-anions, low-molecular and high-molecular products of nitrosylation, iron-deficiency anemia.

References

1. Dubinina E.E., Pustigina A.V., Oxidative modification of proteins, its importance in pathological states, Ukr. biochem. J., **80**, **6**, 5 (2008).
2. Menshikov E.B., Zenkov N.K., Oxidative stress under inflammation, Impr. mod. biol., **117**, **2**, 155 (1997).
3. Menshikov E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Oxidative stress: pathological states and diseases, 284 p. (ARTA, Novosibirsk, 2008).
4. Sagach V.F., Korkach U.P., Kotsuruba A.V., Prisyazhna O.D., The inhibition of oxidative stresses by ecdysterone as the mechanism of the cardio- and vasoprotective action at type I diabetes, Physiol. J., **54**, **5**, 46 (2008).
5. Akopova O.V., Kotsuruba A.V., Tkachenko U.P., Sagach V.F., Nitric oxide suppresses permeability, transition pore opening and enhances calcium uptake in mitochondria in vivo, Physiol. J., **51**, **3**, 3 (2005).
6. Yolkina N.M., Konoshenko S.V., Shashua I., Enzym activity of human erythrocytes under ischemic heart disease, Scientific Notes Taurida National V.I. Vernadsky University, **24** (**63**), **2**, 124 (2011).
7. Novitski V.V., Goldberg V.E., Kolosova M.V., Protein spector of erythrocyte membranes of patients with lung cancer and tumours of head and neck, Bul. experim. biol. and med., **suppl. 1**, 18 (1999).
8. Green L.L., Wagner D.A., Glogowski J., Analysis of nitrate, nitrite and [N⁺³]-nitrate in biological fluids, Anal. Biochem., **126**, **1**, 131 (1982).
9. Gerdal D., Cederbaum A.J., Inhibition of the catalytic activity of alcoholdehydrogenase by NO is associated with S-nitrosylation and the release of zinc, Biochemistry, **35**, **50**, 16186 (1996).
10. Shugaley V.S., Kozina A.S., Content of urea and arginase activity in rats organs under acclimatization for cold, USSR Physiol. J., **8**, 1199 (1977).
1. Chin S.Y., Pandey K.N., Shi S.J., Increased activity and expression of Ca²⁺ – depended NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats, Amer. J. Physiol., **277**, **5**, 797 (1999).

Поступила в редакцию 12.04.2014 г.

УДК 576.8595.132(262.5)

**ПОПУЛЯЦИОННО-ИЕРАРХИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ МЕТАСТРУКТУРЫ ПАРАЗИТАРНОЙ
СИСТЕМЫ НЕМАТОДЫ *HYSTEROETHYLACIUM ADUNCUM* (NEMATODA:
ASCARIDATA) В МОРСКИХ БИОЦЕНОЗАХ КРЫМА**

Завьялов А.В.

*Институт биологии южных морей НАНУ им. А.О.Ковалевского, Севастополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: andrej-zavyalov@yandex.ru*

В работе обобщены последние теоретические разработки в области методологии анализа паразитарных систем, которые представлены на примере паразитарной системы гельминта-генералиста. Впервые проанализирована метаструктура и динамика функционирования морской инвазионной паразитарной системы нематоды *Hysteroethylacium aduncum* (Nematoda: Ascaridata) в условиях биоценозов крымского побережья в аспекте морфофункционального подхода: анализ метаструктуры ПС. В канве этого аспекта описано взаимодействие гемипопуляции нематоды и комплексов популяций её хозяев в процессе последовательного чередования морфофункциональных фаз жизненного цикла *H. aduncum*. Определены функциональные единицы паразитарной системы – комплексы «узнаваемых» соактантов, объединённые в функциональные метаксенные комплексы популяций в границах каждой из морфофункциональных фаз. Изучен механизм взаимодействия этих комплексов в условиях прибрежных биоценозов.

Ключевые слова: *Hysteroethylacium aduncum*, паразитарная система, жизненный цикл, гемипопуляция, морфофункциональная фаза, метаструктура, соактант, функциональный комплекс популяций.

В последние годы внимание исследователей привлекают вопросы, связанные с изучением функционирования паразитарных систем (ПС) гельминтов, входящих в состав водных и наземных биоценозов, что предопределено потребностями сельского хозяйства. Морские экосистемы являются потенциальным источником продовольствия для растущего народонаселения планеты. Черноморская экосистема в силу ряда причин находится под усиливающимся антропогенным прессингом, что влияет на состояние многих черноморских сообществ. Зачастую исследователям не хватает информативных индикаторов (в том числе и биологических) для предварительных прогнозов негативных трансформации экосистем. Такими индикаторами могут быть фоновые паразиты-генералисты. Несмотря на то, что эти паразиты изучены в фаунистическом плане, в вопросах популяционных исследований остаётся немало белых пятен. Нематода *H. aduncum* является типичным их представителем. В связи с этим возникает острая необходимость в исследованиях особенностей развития, жизненных циклов (ЖЦ) этих паразитов и их ПС.

ПС - это надпопуляционная категория, состоящая из популяции паразита и популяций хозяев, участвующих в реализации его ЖЦ в конкретном биоценозе [1, 2]. В современной литературе, посвящённой исследованию ПС, наметился определённый прогресс, связанный не только с попытками разработки терминологического аппарата для обозначений соотношения разномасштабных группировок паразитов, но и с поиском методологической основы анализа связей не только в системе взаимодействия паразит-хозяин, но и морфофункциональной структуры ПС (применение морфофункционального подхода). Базисной основой для анализа в данном случае служат взгляды В.Н. Беклемишева на пространственную и функциональную структуру популяции. Функционирование разномасштабных популяционных группировок происходит в рамках функционального комплекса популяций. Функциональный комплекс – это система группировок, находящихся в «определённой пространственно – временной связи между собой» [1–3]. Основной задачей морфофункционального подхода в изучении ПС и соответственно ЖЦ паразита это выявление таких комплексов, особенностей их взаимодействия.

На современном этапе в морфофункциональном подходе рассматриваются два аспекта: 1) чередование морфофункциональных фаз (МФФ) в ЖЦ; 2) многообразие взаимодействий популяций параксенных хозяев с гемипопуляциями (парагемипопуляциями) гельминта в определённых МФФ-х ЖЦ [3].

Цель данной работы - анализ ПС гельминта-генералиста в формате только одного аспекта морфофункционального подхода – особенности функционирования метаструктуры ПС *H. aduncum* в условиях прибрежных биоценозов Крыма.

В ходе ЖЦ организм проходит несколько стадий, отличающихся в морфофункциональном отношении. Каждая из них имеет свой особый тип взаимодействий с внешней средой разного порядка. В ходе онтогенеза такие устойчивые фазы связаны с быстрыми переходами (выход из яичной оболочки, метаморфоз личинок – переход личинок в последующую стадию), что соответствует фазовым переходам между отдельными устойчивыми его частями. В популяции таких организмов одновременно или последовательно будут присутствовать группировки, представленные отдельными фазами развития особей – «фазовые группировки» [3] или морфофункциональные фазы. Для обозначения частей популяции паразита, состоящих из особей, принадлежащих к разным фазовым группировкам (МФФ), предложен термин «гемипопуляция» [1]. Применительно к ПС *H. aduncum* в условиях Чёрного моря, например, речь идёт о гемипопуляции личинок в популяции шпрота (второй промежуточный хозяин). В популяции мерланга (окончательный хозяин) – это гемипопуляция личинок и гемипопуляция взрослых нематод. Популяции копепод кормового зоопланктона (первый промежуточный хозяин), соответствуют гемипопуляции яиц и личинок (L 2 или L 3). «При всей сложности структуры морфопротекса и соответствующего набора гемипопуляций, исследуется обычный ЖЦ. С точки зрения структуры ЖЦ гемипопуляции – это «последовательные группировки». При этом «последовательность» не обязательно означает строгую очерёдность гемипопуляций во времени и пространстве» [3]. Так, например, гемипопуляции (микрогоемипопуляции) яиц *H. aduncum* и его личинок могут сосуществовать с гемипопуляцией (микрогоемипопуляцией) взрослых нематод.

Например, в организме ставриды и мерланга сосуществуют гемипопуляции личинок (микрөгемипопуляции L 3 и L 4) и взрослых нематод, когда гемипопуляция личинок в дальнейшем является источником для гемипопуляции взрослых паразитов. Такие группировки с точки зрения ЖЦ именуется метагруппировками в составе популяции паразита [3], образующие в совокупности метаструктуру ПС нематоды *H. aduncum*.

Рассмотрим, каким образом осуществляется морфопроецесс в границах каждой МФФ-ы в системе паразит – хозяин (организменный уровень), и в какой последовательности эти фазы образуют на популяционном уровне метаструктуру ПС (рис.1).

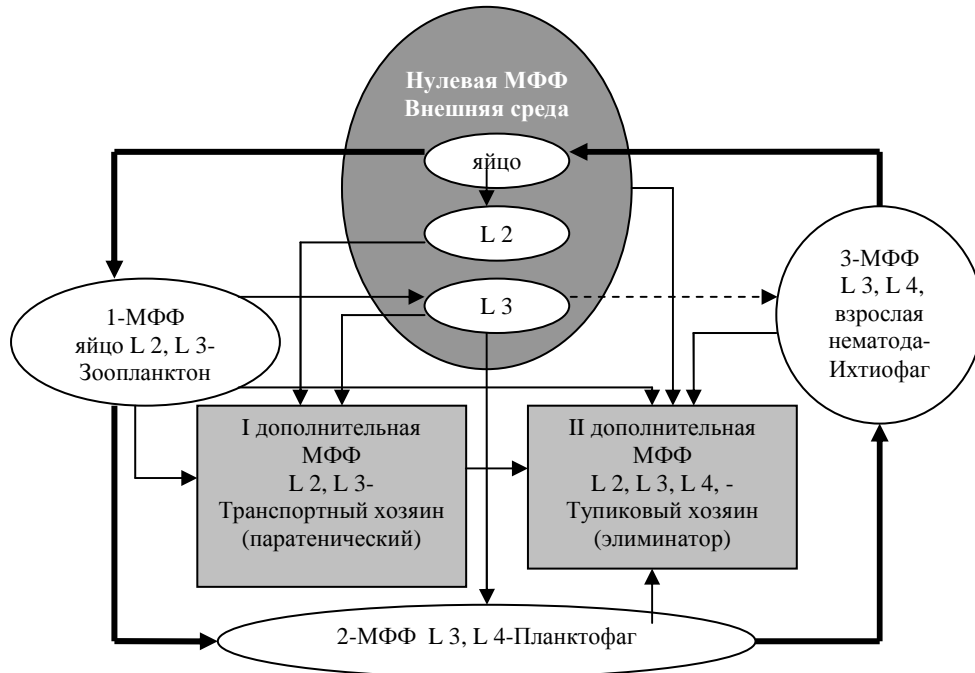


Рис.1. Особенности чередования МФФ в ЖЦ *H. aduncum* у берегов Крыма

- ➔ Основные пути перехода инвазии в последующую МФФ
- ➔ Дополнительные пути перехода инвазии в последующую МФФ
- ⋯➔ Вероятные пути перехода инвазии в последующую МФФ
- Среда первого порядка; □ Среда второго порядка для паразита

1. Нулевая МФФ – яйцо нематоды в морской воде, вышедшее в окружающую среду через пищеварительный тракт ихтиофага. В яйце во внешней среде развивается личинка L 2 в чехлике L 1, которая, не попав в организм копеподы (первый промежуточный хозяин), выходит во внешнюю среду из яичной оболочки [4]. В данном случае морская вода для яйца и личинки – среда первого порядка.

2. Первая МФФ – копепода (первый промежуточный хозяин) заглатывает яйцо и в организме хозяина (среда первого порядка) развивается личинка L 2 в чехлике L 1. Далее L 2 развивается до L 3. Личинка разрывает кишечник хозяина и выходит в гемоцель копеподы. В результате чего копепода становится малоподвижной и

легкодоступной добычей для следующего хозяина (планктофага) [5]. Если перехода по трофической цепи не происходит, то L 3 покидает организм мёртвой копеподы и выходит во внешнюю среду (среда второго порядка) [4].

3. Вторая МФФ – планктофаг (второй промежуточный хозяин) заглатывает заражённую копеподу и приобретает L 3. В полости тела планктофага L 3 не развивается, но накапливается в течение всей жизни рыбы. Но в полости тела планктофага фиксируются и L 4 [6].

4. Третья МФФ – ихтиофаг (окончательный – дефинитивный хозяин) заглатывает планктофага и приобретает инвазионные для ихтиофага L 3 и L 4, которые развиваются до взрослых нематод. Половозрелые нематоды метают яйца. Виток ЖЦ нематоды замыкается [6].

5. Первая дополнительная МФФ – вышедшие во внешнюю среду яйца нематоды, обладая отрицательной плавучестью, оседают на дно, как и личинки L 2, вышедшие из яичной оболочки в нулевой МФФ и L 3 покинувшие тело копеподы. Яйца, L 2 и L 3 попадают в организм многочисленных бентосных транспортных (паратенических) хозяев, где возможно L 2 линяет до L3. Эти личинки накапливаются в организме паратенических хозяев [7].

6. Вторая дополнительная МФФ – L 2, L 3, L 4 и взрослые нематоды по трофической цепи попадают в организмы тупиковых и элиминативных хозяев, где происходит элиминация определённой части гемипопуляции паразита (вывод из ЖЦ определённой части гемипопуляции нематоды).

Рассмотрим подробнее ЖЦ нематоды в ракурсе чередования (МФФ), пространственные и функциональные особенности его реализации на организменно-популяционном уровне. Существует мнение, что ЖЦ *H. aduncum* в Чёрном море реализуется в двух направлениях – в бентали и пелагиали [8]. Авторы рассматривают эти два направления как две взаимодействующие подсистемы ПС [8], что на наш взгляд неверно. Такое взаимодействие только двух подсистем – слишком упрощённый подход к рассмотрению реальной структуры ПС нематоды, который не раскрывает всего многообразия ценотических связей, многопланового механизма взаимодействия хозяев разного статуса с многочисленными гемипопуляциями яиц, личинок и взрослых нематод в конкретных экологических условиях. В данном случае авторы попытались упростить анализ структуры ПС на ценотическом уровне, но этот уровень анализа включает в себя организменно-популяционный, который даёт возможность последовательно рассмотреть иерархические особенности ПС – от простого к сложному [3]. В случае бентали и пелагиали речь может идти как о пространственных компонентах ПС, но не как о подсистемах. Граница между бенталью и пелагиалью в рамках ПС *H. aduncum* условна, так как пелагиаль и бенталь – две неотъемлемые части единой экосистемы, не способные существовать и функционировать отдельно друг от друга. Это становится очевидным при анализе последовательности МФФ в бентали и пелагиали и особенностей передачи инвазии по трофической цепи по вертикали водной толщи (из пелагиали в бенталь и обратно) у крымских берегов.

В пелагиали яйцо через кишечник ихтиофага (окончательного хозяина) попадает во внешнюю среду. В яйце развивается L 2 в чехлике L 1 (нулевая МФФ) [5]. L 2 в яичной оболочке заглатывают низшие ракообразные (копеподы) – первый

промежуточный хозяин, в организме которых происходит линька L 2 до L 3 (первая МФФ или стартовая). Как правило, с копеподами L 3 по трофической цепи попадают в организм рыб – планктофагов (второй промежуточный хозяин). В дальнейшем в организме планктофага L 3 и L 4 накапливаются, но не развиваются (вторая МФФ). В полости тела планктофагов встречаются L 3 и L 4 различных размеров инвазионные для окончательного хозяина [5, 6, 9]. Хищные рыбы, поедая планктофагов, приобретают L 3, которые линяют и превращаются в L 4, а затем во взрослых нематод. Взрослые нематоды достигают зрелости, метают яйца, после чего гибнут (третья МФФ – финальная). Яйца из организма дефинитивного хозяина выходят во внешнюю среду и ЖЦ паразита замыкается.

Таким образом, в пелагиали реализация ЖЦ идёт классическим путём, описанным многократно в литературе [4 - 11]. Последовательность МФФ осуществляется от стартовой фазы: паразит – первый промежуточный хозяин (гемипопуляции L 2, L 3 – популяция копепод), затем паразит – второй промежуточный хозяин (гемипопуляции L 3, L 4 – популяция планктофага и/или гемипопуляции L 2, L 3 в воде – популяция планктофага) и до конечной МФФ паразит – дефинитивный хозяин (гемипопуляция взрослых нематод – популяция ихтиофага). Нулевая МФФ это гемипопуляции яиц, L 2, L 3 во внешней среде.

Совершенно иная картина при анализе последовательности МФФ в бентали. Яйцо, попавшее в окружающую среду через кишечник придонно-пелагических и донных ихтиофагов, обладая отрицательной плавучестью, оседает на дно. Из яйца, не попавшего в организм первого промежуточного хозяина, во внешнюю среду выходит L 2 в чехлике L 1. Далее с абсолютно равной вероятностью L 2 может попасть в организм первого промежуточного хозяина (высшие ракообразные) [8] и в транспортного хозяина (многочисленные обитатели дна). Иными словами, переход от нулевой и стартовой МФФ (гемипопуляции яиц и L 2 – окружающая среда или гемипопуляции L 2, L 3 – популяция первого промежуточного хозяина) в бентали не всегда происходит в традиционной последовательности (как в пелагиали) ко второй МФФ (гемипопуляции L 3, L 4 – популяция второй промежуточный хозяин) с участием рыб бентофагов. Инвазионное начало может переходить к первому промежуточному хозяину (крабы) от транспортного и с большой вероятностью от второго промежуточного хозяина (бентофага), так как крабы – хищники и падальщики. их спектр питания широк. Некоторые исследователи считают, что инвазия попадает в организм окончательного хозяина в бентали Чёрного моря через крабов [8], что в условиях Крымского побережья возможно, но, в массовом виде, маловероятно. Размер взрослых крабов и размер ротовой полости массовых видов донных хищников (камбала-калкан, ерш и катран) не всегда соизмеримы. Необходимость питаться «труднодоступными» объектами у донных хищников при наличии массовых видов в прибрежье (моллюсков, мерланга, барабули, шпрота, бычков и др.) отсутствует или является случайной.

Таким образом, в бентали нет строгой последовательности МФФ. Роль высших ракообразных (крабов), как основного первого промежуточного массового хозяина в бентали, не совсем соответствует традиционным представлениям о роли первого промежуточного хозяина в ЖЦ паразита. При этом через крабов инвазия попадает в организм окончательного хозяина [8], минуя второго промежуточного. По-

видимому, авторы, определившие роль высших ракообразных как основного массового первого промежуточного хозяина в бентали, преувеличивают эту роль и недооценивают функциональную роль обитателей пелагиали в реализации ЖЦ в бентали, пространственно и функционально отделив одно от другого. Поэтому вторым важным моментом при анализе ЖЦ в бентали и пелагиали является особенность передачи инвазии по вертикали водной толщи из пелагиали в бенталь и обратно. Проанализируем роль массовых хозяев *H. aduncum* у берегов Крыма, начиная с хозяев, участвующих в стартовой МФФ – различных видов кормового зоопланктона (первый промежуточный хозяин).

1. Зоопланктон в летний период в течение суток перемещается по вертикали в толще воды из пелагиали в придонные слои и обратно и активно участвует в реализации ЖЦ не только в пелагиали, так как сам является одним из основных звеньев трофической цепи в бентали. Представители холодолюбивого комплекса зоопланктона (калянус, псевдокалянус) локализуются в массе своей у нижней границы термоклина, эвритермный комплекс (акарции) предпочитает верхнюю границу термоклина, а теплолюбивый комплекс – мелководье [12, 13]. Передача инвазии от первого промежуточного хозяина (копеподы) последующим хозяевам активно происходит как в пелагиали, так и в бентали.

2. Черноморский шпрот (массовый второй промежуточный хозяин) в течение светового дня, образуя плотные косяки, опускается в придонные слои, интенсивно питается кормовым зоопланктоном (холодолюбивый комплекс). Активная передача инвазии шпроту происходит от первого промежуточного хозяина в бентали. При этом сам шпрот становится добычей донных ихтиофагов, обеспечивая передачу инвазии во второй МФФ окончательному хозяину (мерланг, ёрш, камбала-калкан, скаты и др.). В 21 – 00 шпрот прекращает питаться [14, 15], поднимается в пелагиаль и рассеивается, становится добычей пелагических ихтиофагов (ставрида, сельдь, луфарь, пеламида и др.) с соответствующей передачей инвазии окончательному хозяину по трофической цепи в пелагиали.

3. Рацион питания у различных возрастных групп мерланга отличается. Следовательно, отличается распределение этого вида по вертикали водной толщи. Старшевозрастные особи питаются в основном рыбой (шпрот, хамса, мерланг) в бентали, средневозрастные – рыбой (шпрот, хамса, мерланг) и планктоном в бентали и в пелагиали, младшевозрастные – в основном планктоном исключительно в пелагиали [16]. Во всех случаях происходит передача инвазии по всей вертикали водной толщи. Кроме того, для мерланга характерны сезонные миграции (к берегу и обратно) на мелководье в зимний период [16]. Следовательно, мерланг участвует в реализации ЖЦ как в бентали, так и в пелагиали как основной массовый окончательный хозяин нематоды (третья МФФ).

4. Камбала-калкан при недостатке мерланга в рационе питания у юго-западного побережья Крыма поднимается в пелагиаль, где активно питается шпротом и хамсой. Инвазия передаётся от планктофага ихтиофагу [17]. Соответственно передача инвазии от камбалы зоопланктону может происходить как в пелагиали, так и в бентали (третья МФФ).

5. Яйца нематоды через пищеварительный тракт окончательного пелагического хозяина (ставрида, сельдь, луфарь, сарган и др.) попадают во внешнюю среду (нулевая МФФ) обладая, отрицательной плавучестью в большей своей части оседает на дно. В бентали яйцо, попадая в организмы многочисленных донных транспортных (паратенических хозяев) гидробионтов, где в конечном итоге появляется L 3 (и вероятно L 4) – инвазионная для рыб-бентофагов.

В свете выше изложенных доводов, утверждение о том, что высшие ракообразные выполняют функцию основного массового первого промежуточного хозяина в бентали довольно противоречиво. Так как крабы – донные хищники-засадчики, передача инвазионного начала следующему хозяину (второй промежуточный и окончательный хозяин) также спорна. Популяции высших ракообразных количественно не соизмеримы с численностью и биомассой заражённой части комплекса популяций кормового зоопланктона в бентали, и сопоставлять значимость стартовой МФФ в бентали с таковой в пелагиали не имеет смысла. Поэтому утверждение о том, что пелагиаль и бенталь, являются подсистемами ПС в корне неверно. И рассматривать катрана, как единственное связующее звено между подсистемами [8] тем более проблематично, так как в последнее десятилетие численность катрана у берегов Крыма катастрофически сократилась, а вопрос, является ли катран окончательным хозяином или тупиковым, на наш взгляд, остаётся открытым по настоящее время.

Следовательно, при анализе структуры ПС *H. aduncum* нет возможности провести чёткую границу между пелагиалью и бенталью, которые только в пространственном отношении, являются составными частями ПС нематоды. Граница в функциональном отношении отсутствует, так как последовательность МФФ в бентали является функциональным продолжением и составным элементом в механизме реализации ЖЦ не только в пелагиали, но и в биоценозе в целом.

Проанализировав пространственные и функциональные особенности чередования МФФ ЖЦ в пелагиали и бентали на организменно-популяционном уровне, конкретизируем этот вопрос на популяционно-ценотическом уровне. В данном случае следует начать с того, что популяция – это элемент биоценоза, являющегося иерархической системой со сложной функциональной структурой. Популяционная система, состоящая из более мелких группировок с различной степенью воспроизводства с одной стороны и компоновкой из функциональных группировок, обозначенных по признакам фаз ЖЦ с другой стороны [3].

Функциональные группировки, объединённые по признакам фаз при их чередовании – это метагруппировки, образующие метаструктуру ПС. Что же лежит в основе иерархии метаструктуры? Или из каких составных элементов образованы метагруппировки и как они взаимодействуют во времени и пространстве при реализации ЖЦ?

При описании инфекционных и инвазионных ПС наземных гельминтов синонимом группировок, участвующих в реализации ЖЦ, является термин – соактант [18]. Соактанты это структурные единицы ПС, её сочлены – это различные части гемипопуляции паразита и популяции (части популяции) их хозяев. Части гемипопуляции паразита и «соответствующие» им популяции определённого вида

хозяина в современной литературе обозначаются, как «узнаваемые» соактанты [19]. Узнаваемые соактанты при взаимодействии объединяются в комплексы узнаваемых соактантов – это комплексы популяций (гемипопуляции яиц, L2, L3, L4 и взрослых нематод) паразита и популяции (определённого вида) хозяина. (рис. 2).

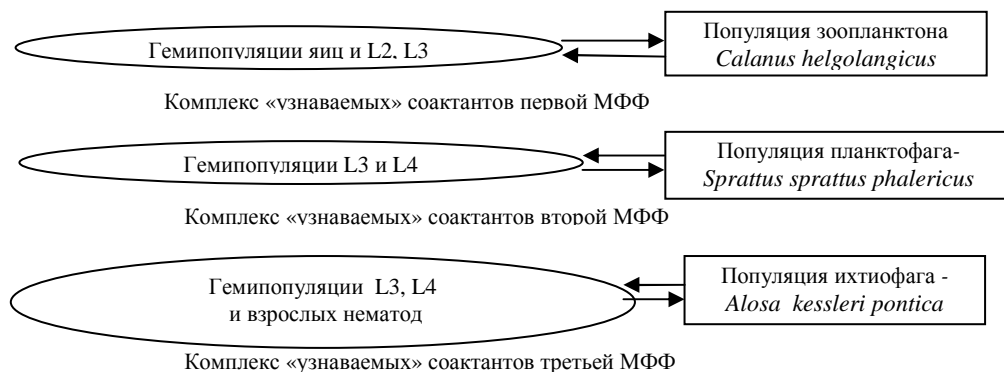


Рис.2. Комплексы узнаваемых соактантов участвующие в разных МФФ

Комплексы узнаваемых соактантов – это структурно-функциональные единицы как метаструктуры, так и всей ПС. Например, в стартовой МФФ ЖЦ *H. aduncum* комплекс «узнаваемых» соактантов будут включать в себя гемипопуляции яиц, L 2, L3 и популяцию одного вида из числа видов кормового зоопланктона – например *Calanus helgolandicus*; во второй МФФ – гемипопуляции L3, L4 и популяция планктофага – например хамсы (*Engraulis encrasicolus ponticus*) или шпрота (*Sprattus sprattus phalericus*); в финальной МФФ – гемипопуляции L3, L4, взрослых нематод и популяция ихтиофага – например сельди (*Alosa kessleri pontica*).

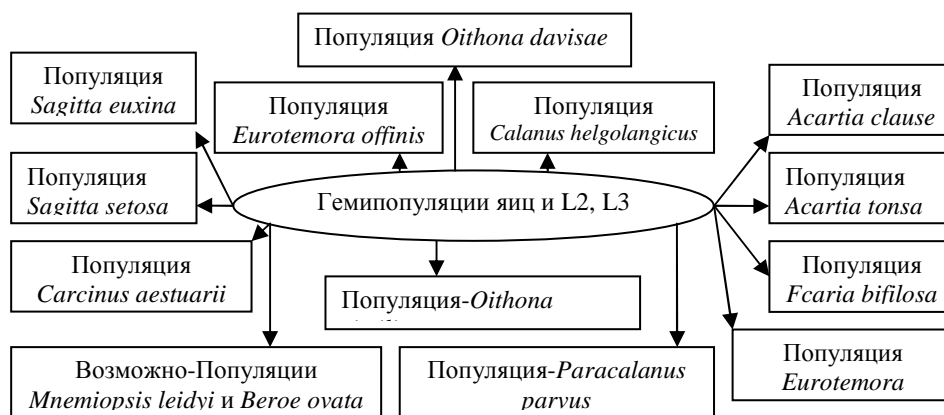


Рис. 3. Функциональный метаксенный комплекс соактантов стартовой МФФ у берегов Крыма

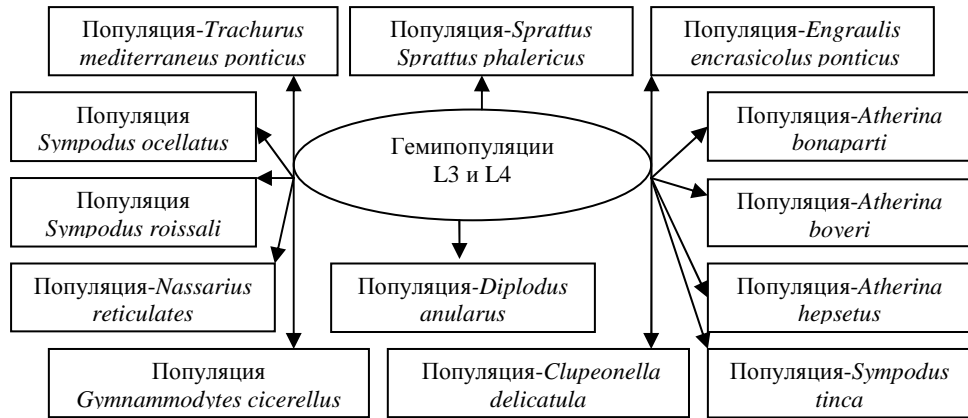


Рис. 4. Функциональный метаксенный комплекс соактантов второй МФФ у берегов Крыма

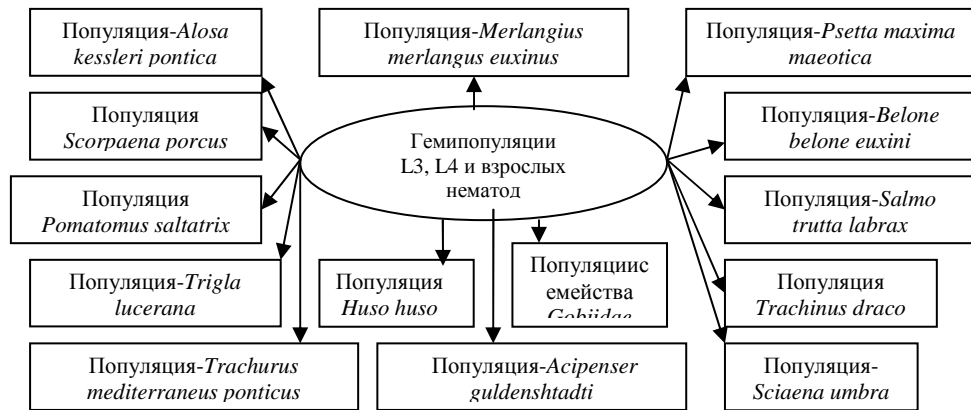


Рис. 5. Функциональный метаксенный комплекс соактантов финальной МФФ у берегов Крыма

На любом этапе ЖЦ (в той или иной МФФ) участвует не один, а «несколько» – множество комплексов «узнаваемых» соактантов, которые совместно образуют функциональные популяционные комплексы метаструктуры ПС в биоценозе или метаксенные функциональные популяционные комплексы (рис. 3-5.). В основе этих комплексов лежит такое явление, как метаксенция – когда не возможно заменить группу хозяев в определённой МФФ на хозяев паразита, участвующих в других МФФ при реализации ЖЦ [2, 3].

На рисунке 6 представлены десять функциональных метаксенных комплексов, взаимодействующих в процессе чередования МФФ по всему пространству водной толщи, включая пелагиаль и бенталь.

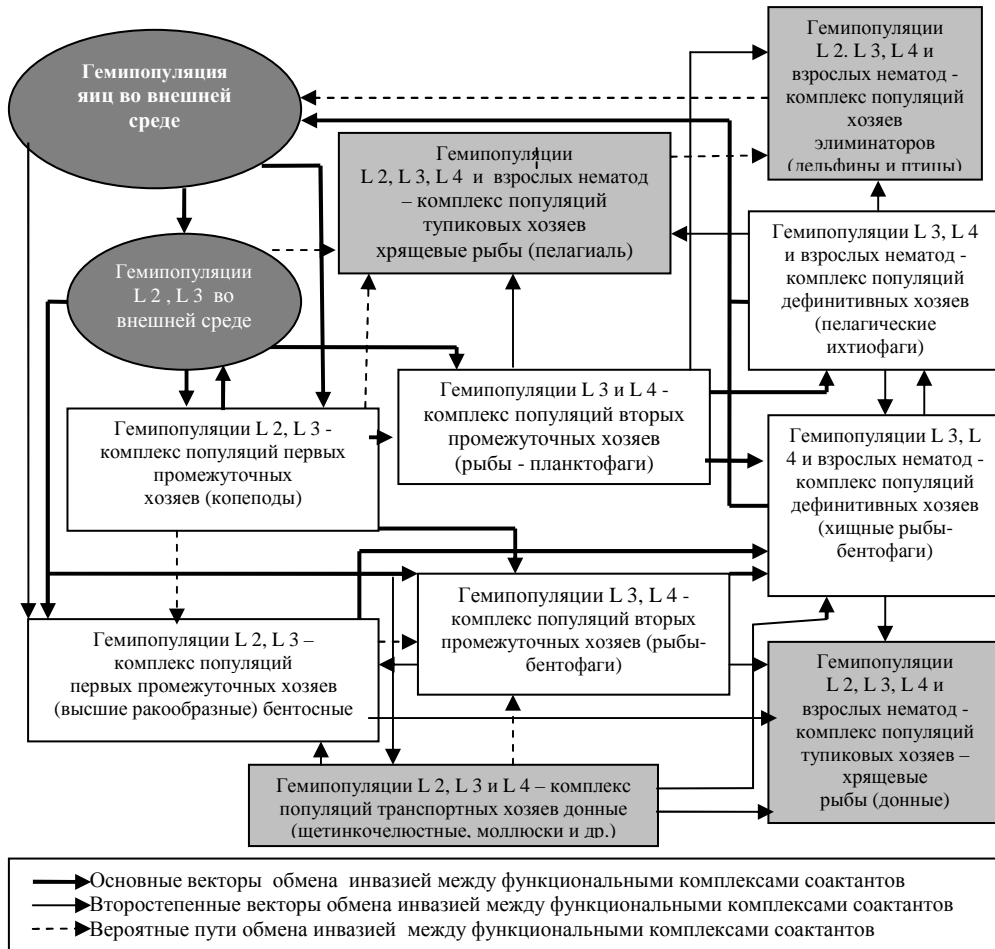


Рис.6. Пространственно-функциональная организация метаструктуры ПС *H. aduncum* у берегов Крыма

■ Интегрирующий блок; □ трофический блок; □ компенсаторный блок

Это взаимодействие основных и второстепенных метаэлементов ПС. К основным метаэлементам относятся шесть функциональных метаксенных комплексов, участвующих в МФФ-х от стартовой до финальной, с участием: первых промежуточных, вторых промежуточных и окончательных хозяев нематоды. Эти основные элементы метаструктуры образуют «трофический» блок ПС. Также к основным метаэлементам относится блок «интегрирующий» систему [3], представленный гемипопуляциями яиц, L 2, L 3 во внешней среде (среда второго порядка). К второстепенным метаэлементам («компенсаторный» блок) относятся четыре функциональных метаксенных комплекса, включающих гемипопуляции яиц, L 2, L 3 *H. aduncum* и комплексы популяций транспортных хозяев (щетинкочелюстные, моллюски, желетелые и др.), гемипопуляции L 3, L 4,

взрослых нематод и комплекс популяций тупиковых, хозяев-элиминаторов (хрящевые (донные и пелагические), дельфины, птицы).

Рассмотрим механизм передачи инвазии от нулевой и стартовой к последующим МФФ-м при взаимодействии основных и второстепенных функциональных метаксенных комплексов метаструктуры ПС. Яйцо (гемипопуляция) в одном случае попадает в организм копепод как в пелагиали, так и в бентали. В другом случае яйцо, опускаясь в бенталь, попадает в организм крабов, либо в организм многочисленных паратенических хозяев. В третьем случае из яйца выходит в окружающую среду L 2 (гемипопуляция), которая со временем попадает в организм ракообразных, моллюсков и щетинкочелюстных и др., где превращается в L 3 (гемипопуляция). На стартовой (первой) МФФ в яйце происходит развитие L 2, которая выходит из яичной оболочки в кишечнике копепод, развивается (линька) до L 3. В дальнейшем возможны два пути развития событий: 1. Заражённые копеподы, заглатываются планктофагами в пелагиали, бентофагами в бентали и, возможно, попадает в организмы моллюсков и щетинкочелюстных в бентали. 2. Заражённая копепода, не проглоченная планктофагами или другими хозяевами, гибнет при развитии паразита. Из тела копеподы во внешнюю среду выходит L 3 (личинка, инвазионная для рыб), которая, в свою очередь, с большой вероятностью попадает в организмы пелагических, придонно – пелагических и бентических хозяев – ставриды, шпрота, мерланга и др. (вторая и третья МФФ).

В дальнейшем в ЖЦ включаются функциональные комплексы, состоящие наряду с гемипопуляциями паразита и соответствующих им популяций пелагических и бентосных ихтиофагов (дефинитивные хозяева). В организме этих хозяев происходит развитие L 3 до L 4 (гемипопуляция) и далее до взрослых нематод (третья, завершающая МФФ). После вымета нематодами яиц и выхода их во внешнюю среду, завершается ЖЦ и начинается нулевая МФФ нового витка ЖЦ нематоды. Комплексы популяций тупиковых хозяев и хозяев элиминаторов выводят из ЖЦ часть гемипопуляции *H. aduncum* тем самым, оказывая определённым образом влияние на процесс реализации ЖЦ гельминта.

В разных районах у берегов Крыма эти комплексы отличаются по видовому составу метаксенных хозяев нематоды, что отражается на особенностях передачи инвазионного начала следующему хозяину/хозяевам (показатели заражённости) в очередную МФФ. Видовой состав хозяев в функциональных метаксенных комплексах популяций имеет не только районное отличие. Его изменение происходит как в разные сезоны года, так и в разные годы. И соответственно степени заражённости района (численности популяции паразита), что в значительной степени определяет динамику функционирования ПС в определённом районе у берегов Крыма.

Таким образом, метаструктура ПС у берегов Крыма образована основными и второстепенными метаэлементами. Динамика взаимодействия основных метаэлементов при смене МФФ определяется рядом факторов, в частности: видовым составом кормового зоопланктона в разных районах Крыма [12]; его численностью и массой [14, 15, 20,]; размерно-возрастным составом популяций планктофагов в разных районах в разные сезоны года, их рацион питания [14, 15];

возрастным составом популяций ихтиофагов и их численностью, видовым составом ихтиофагов в разных районах [22-24].

В заключение анализа метаструктуры, определяющей стратегию ЖЦ *H. aduncum* в прибрежье Крыма на каждом этапе ЖЦ (МФФ), следует отметить, что большая часть передаваемой по трофическим цепям инвазии проходит в пелагиали. Об этом свидетельствует огромная численность популяций и биомасса кормового зоопланктона, пелагических планктофагов (хамса, шпрот, ставрида, молодь мерланга) и их высокая заражённость. Бенталь в данном случае играет «подстраховочную» роль или функцию компенсатора на случай резких колебаний численности популяции основных массовых пелагических хозяев паразита. Данный механизм является гарантом устойчивости и стабильного функционирования ПС в определённых экологических условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Основной структурно-функциональной единицей в ПС *H. aduncum* у берегов Крыма является комплекс «узнаваемых» соактантов, состоящий из гемипопуляций паразита и соответствующей им популяции хозяина определённого вида. Множество взаимодействующих комплексов «узнаваемых» соактантов объединяются в метаксенные функциональные комплексы популяций в границах каждой МФФ-ы и образуют метаструктуру ПС.
2. Метаструктура ПС *H. aduncum* слагается по всей водной толще из десяти взаимодействующих основных и второстепенных функциональных метаксенных комплексов (метаэлементов), образованных гемипопуляциями паразита и соответствующих им в определённых МФФ комплексах популяций хозяев (первого, второго промежуточного, транспортного (резервуарного), окончательного и тупикового хозяев).
3. Функционирование метаструктуры при смене МФФ осуществляется посредством взаимодействия трёх функциональных блоков ПС – интегрирующего, трофического и компенсаторного, образованных основными и второстепенными метаэлементами (метаксенными функциональными комплексами популяций).
4. Динамика взаимодействия основных метаэлементов при смене МФФ определяется рядом факторов, в частности: видовым составом кормового зоопланктона в разных районах Крыма; размерно-возрастным составом популяций планктофагов в разных районах в разные сезоны года, их рационом питания; возрастным составом популяций ихтиофагов и их численностью, видовым составом ихтиофагов в разных районах.
5. Динамика второстепенных метаэлементов в компенсаторном блоке в частности взаимодействующих гемипопуляций нематоды и паратенических хозяев в бентали зависит от численности и видового состава паратенических хозяев в биоценозе. Значимость тупиковых и элиминативных хозяев заключается в выводе из ЖЦ паразита части его гемипопуляции.

Список литературы

1. Беклемишев В.Н. Биоценотические основы сравнительной паразитологии / В.Н. Беклемишев. - М. Наука, 1970. - 502 с.
2. Беклемишев В.Н. Возбудители болезней как члены биоценоза / В.Н. Беклемишев // Зоол. журн. - 1956. - Т. 35, вып. 12. - С. 1765-1778.
3. Гранович А. И. Паразитарная система как отражение структуры популяции паразитов: концепция и термины / А.И. Гранович // Тр. Зоол. ин-та РАН. - 2009. - Т. 313, № 3. - С. 329-337.
4. Завьялов А.В. Исследование процесса заражения личинками нематоды *Hysterothylacium aduncum* (Rud; 1802) копепод и личинок камбалы-калкан / А.В. Завьялов, Т.Г. Белоиваненко // Рибне госп-тво України. - 2008. - № 4. - С. 47-49.
5. Вальтер Е. Д. Экспериментальное изучение начальных этапов жизненного цикла *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: ascaridata) / Е. Д. Вальтер // Паразитология. - 1998. - Т. 32, вып. 2. - С. 146-155.
6. Гаевская А. В. Анизакидные нематоды и заболевания, вызываемые ими у животных и человека / А. В. Гаевская. — Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. - 223 с.
7. Gonzalez L. The life cycle of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda, Anisacidae) in Chilean marine farms / L. Gonzalez // Aquaculture. - 1998. - Vol. 162, iss. 3-4. - P. 173-186.
8. Гаевская А. В. Особенности функционирования паразитарной системы нематоды *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Ascaridata) в Чёрном море / А. В. Гаевская, Ю. М. Корнийчук, В. К. Мачковский, Н. В. Пронькина, Т. А. Полякова, Т. Н. Мордвинова, М. П. Попок // Мор. экол. журн. - 2010. - Т. 9, № 2. - С. 37-50.
9. Køie M. Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi 1802) (Nematoda: Ascaridoidea, Anisakidae) / M. Køie // Can. J. Zool. - 1993. - Vol. 71, no. 7. - P. 1289-1296
10. Adroher E. J. In vitro development of the fish parasite *Hysterothylacium aduncum* from the third larval stage recovered from a host to the third larval stage hatched from the egg / E. J. Adroher, D. Malagon, A. Valero, R. Benitez // Dis. Aquat. Organ. - 2004. - Vol. 58, no. 1. - P. 41-45.
11. Yoshinaga T. Experimental life cycle of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) in fresh water / T. Yoshinaga, K. Ogawa, H. Wakabayashi // Fish Pathol. - 1987. - Vol. 22, no. 4. - P. 243-251.
12. Загородняя Ю.А. Современное состояние зоопланктона у берегов Крыма / Ю.А. Загородняя, Т.В. Павловская, В.К. Морякова // Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (черноморский сектор). - Севастополь, 2003. - Гл. 2. - С. 49-83.
13. Ковалёв А.В. Исследования зоопланктона Чёрного моря в 1995 г. / А.В. Ковалёв, Н.А. Островская, Ю.А. Загородняя // Диагноз состояния среды прибрежных и шельфовых зон Чёрного моря. - Севастополь, 1996. - С. 254-265.
14. Глущенко А.И. Условия нагула черноморского шпрота в основных районах летнего промысла в современный период / А.И. Глущенко, С.А. Негода // Рибне госп-тво України. - 2005. - № 3-4 (54). - С. 6-8.
15. Глущенко А.И. Особенности питания черноморского шпрота *Sprattus sprattus phalericus* (Risso) (Pisces: Clupeidae) и формирование его нагульных скоплений / А.И. Глущенко, А.К. Чашин // Мор. экол. журн. - 2008. - Т. 7, № 3. - С. 5-14.
16. Бурдак В.Д. Биология черноморского мерланга (*Odontogadus merlangus euxinus* (Nordmann)) / В.Д. Бурдак // Тр. Севастоп. биол. ст. - 1964. - Т. 15. - С. 196-278.
17. Световидов А.И. Рыбы Черного моря / А.И. Световидов. - Л. : Наука, 1964. - 550 с.
18. Пашкин А.В. Домашние животные и возбудители заразных болезней – соактанты инфекционных и инвазионных паразитарных систем / А.В. Пашкин, О.М. Параева, Е.В. Сергеева, Ю.В. Пашкина // Ветеринарная медицина домашних животных : сб. ст. - Казань, 2007. - Вып 4. - С. 133-136.
19. Макаров В.В. Теория саморегуляции паразитарных систем В. Д. Белякова — парадигма в учении об эпидемическом процессе / В.В. Макаров // Ветеринарная патология. - 2004. - № 3 (10). - С. 10-13.
20. Гапишко А.И. Характеристика кормовой базы шпрота и её влияние на особенности распределения, образования и распада промысловых скоплений шпрота : отчет о НИР АзЧерНИРО / А.И. Гапишко, Г.С. Юрьев. - Керчь, 1985. - С. 55-64.
21. Завьялов А.В. Межгодовые особенности заражённости черноморского шпрота *Sprattus sprattus phalericus* (Risso) личинками нематоды *Hysterothylacium aduncum* (Rud; 1802) у юго-западного побережья Крыма / А.В. Завьялов // Рибне госп-тво України. - 2010. - № 4. - С. 12-17.

22. Завьялов А.В. Особенности межгодовых колебаний заражённости ставриды *Trachurus mediterraneus* (Staindachner) нематодой *Hysterothylacium aduncum* (Rud.; 1802) у юго-западного побережья Крыма / А.В. Завьялов, Н.С. Кузьмина // Рыбное госп-тво України.- 2010. - № 2 (67). - С. 25-29.
23. Завьялов А.В. Особенности зараженности мерланга *Merlangius merlangius euxinus* нематодой *Hysterothylacium aduncum* (Rud., 1802) у юго-западного побережья Крыма в различные годы / А.В. Завьялов, Н.С. Кузьмина // Рыбное хоз-во. - 2011. - № 1. - С. 51-54.
24. Завьялов А.В. Экологические аспекты заражённости камбалы – калкан *Psetta maxima maeotica* (L., 1758) нематодой *Hysterothylacium aduncum* (Rud., 1802) у юго-западного побережья Крыма / А.В. Завьялов, Д.К. Гуцал, Т.Г. Белоиваненко // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы азово-черноморского региона : материалы VII междунар. конф. – Керчь, 20

Зав'ялов А.В. Популяційно-ієрархічні і функціональні особливості організації метасруктури паразитарної системи нематоди *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Ascaridata) в морських біоценозах Криму / Зав'ялов А.В. // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 80-95.

В роботі узагальнені останні теоретичні розробки в галузі методології аналізу паразитарних систем, які представлені на прикладі паразитарної системи гельмінта-генераліста. Вперше проаналізовано метасруктуру і динаміку функціонування морської інвазивної паразитарної системи нематоди *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Ascaridata) за умов біоценозів кримського прибережжя в аспекті морфофункціонального підходу: аналіз гельмінтопопуляції нематоди і комплексів популяцій її хазяїв у процесі послідовного чергування морфофункціональних фаз життєвого циклу *H. aduncum*. Визначені функціональні одиниці паразитарної системи-комплексів тих що «впізнавані» соактантів, об'єднані в функціональні метаксенові комплекси популяцій в межах кожної з морфофункціональних фаз. Вивчено механізм взаємодії цих комплексів за умов прибережних біоценозів.

Ключові слова: *Hysterothylacium aduncum*, паразитарна система, життєвий цикл, геміпопуляція, морфофункціональна фаза, метасруктура, соактант, функціональний комплекс популяцій.

POPULATION-IERARHIC AND FUNCTIONAL PECULIARITIES OF ORGANIZATION METASTRUCTURE PARASITIC STRUCTURE OF THE NEMATODA *HYSTERTHYLACIUM ADUNCUM* (NEMATODA: ASCARIDATA) IN THE CRIMEAN COASTAL BIOCOENOSIS

Zavyalov A. V.

*A.O. Kovalevsky Institute of the Biology of the Southern Seas National Ukrainian Academy of Sciences, Sevastopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: andrej-zavyalov@yandex.ru*

The results of current study describe the methodology of parasite system analysis at the case of Black Sea helminth-generalist. Marine invasion parasite system of the nematode *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Ascaridata) and the dynamics of its function in Crimean coastal biocenosis on the basis of morpho-functional approach – analysis of metastructure was studied. Structural component in metastructure are visible soactants (hemypopulation of the parasite and corresponding populations of their hosts of the species) which form population complexes of visible soactants in each morpho-functional phase of life cycle caused the interactions between the nematode hemypopulation and metaxenic hosts (hosts of different species). Majority of such complexes form the functional components of metastructure – metaxenic functional

complexes of population. The function of metastructure at the life cycle of *H. aduncum* (changing of morpho-functional phases) at the coastal waters of Crimea realizes via interaction of 10 metaxenic functional complexes of population in pelagic and benthic waters, which detects the strategy of life cycle in separate biocenosis. This interaction characterizes the dynamic of three functional components both in metastructure and the total parasite system – component integrated of the system (hemypopulations of the eggs and larvae of the nematode in the environment), trophic component (hemypopulations of the nematode – population complexes of the hosts (first intermediate, second intermediate and the definitive), compensatory component (hemypopulation of the nematode – population of paratenic, ... and elimination hosts). The metastructure of *H. aduncum* in coastal waters of Crimea includes the basic and additional metacomponents. The basic ones are metaxenic functional complexes of populations of trophic component and the integrated system component (hemypopulations of eggs and larvae in the environment). The additional metaelements include metaxenic functional complexes of population forming compensatory component. The dynamics of interaction of the basic metaelements during the changing of the morpho-functional phases depends on the following factors: 1. Number of population of crustacean, their biomass biodiversity of food zooplankton in different regions of Crimea; 2. Age-size composition of phytoplankton-feeders in different locations and different seasons; 3. Age and species composition of fish-feeders and their number. The dynamics of the additional metaelements in compensatory component including interactive hemypopulations of nematode and paratenic hosts in benthic waters depends on number and biodiversity of paratenic hosts in biocenosis. The significance of reservoir and eliminative hosts is detected the elimination from the life cycle of the parasite any hemypopulations of larvae and adults.

Keywords: *Hysterothylacium aduncum*, parasitic system, life cycle, hemipopulation, morphofunctional phase, metastructure, soaktant, functional population complex

References

1. Beklemishev V. N. Biotsenotichesky basis comparative parasitology, Moscow: Nauka, 502 (1970).
2. Beklemishev V. N. Pathogens as members biocenosis. Zool. journal. 35(12) 1765-1778 (1956).
3. Granovich A. I. Granovich Parasite Granovich AI system as a reflection of the population structure of parasites: the concept and terms, Proc. Zool. Inst RAS, 313 (3) 329-337 (2009).
4. Zavyalov A. V., Beloivanenko T. G. Investigation of infection nematode larvae *Hysterothylacium aduncum* (Rud; 1802) copepods and larval turbot, Ribno PRESSOL Schmiergeräte GmbH Tel -operation of Ukraine, 4, 47-49 (2008).
5. Walter E. D. Experimental study of the initial stages of the life cycle *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: ascaridata), Parasitology, 32 (2), 146-155 (1998).
6. Gaevskaya A. V. Anizakidnye nematodes and diseases caused by them in animals and man, Sevastopol: ECOS- Hydrophysics, 223(2005).
7. Gonzalez L. The life cycle of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda, Anisacidae) in Chilean marine farms, Aquaculture, 162 (3-4), 173-186 (1998).
8. Gaevskaya A. V., Korniiichuk U. M., Machkevsky V. K., Pronkina N. V., Polyakova T. A., Mordvinova T.N., Popyuk M. P. Peculiarities of the parasitic nematode system *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Ascaridata) in the Black Sea, Mor . Ecol . journal., 9(2)37-50(2010).
9. Keie M. Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi 1802) (Nematoda: Ascaridoides, Anisakidae), Can. J. Zool, 71 (7), 1289-1296 (1993).

10. Adroher E. J., Malagon D., Valero A., Benitez R. In vitro development of the fish parasite *Hysterothylacium aduncum* from the third larval stage recovered from a host to the third larval stage hatched from the egg, *Dis. Aquat. Organ.*, 58 (1), 41-45 (2004).
11. Yoshinaga T., Ogawa K., Wakabayashi H. Experimental life cycle of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) in fresh water, *Fish Pathol.*, 22 (4) 243-251 (1987).
12. Zagorodnyay Y.A., Pavlovskay T., Moryakov V. K. Current status of zooplankton off the coast of the Crimea, The current state of biodiversity of coastal waters of Crimea (the Black Sea sector). - Sevastopol, 2, 49-83 (2003).
13. Kovalev A.V., Ostrovsky N., Countryside A. Studies of zooplankton in the Black Sea in 1995, diagnosis of the state of the environment of coastal and offshore areas of the Black Sea, Sevastopol, 254-265 (1996).
14. Gluschenko A.I., Nehoda S. A. Terms feeding the Black Sea sprat in the main areas of summer fishing in the modern period, *Ribno PRESSOL Schmiergeräte GmbH Tel -operation of Ukraine*, 3-4 (54). 6-8 (2005).
15. Gluschenko A.I., Chashchin A.T. Feeding the Black Sea sprat *Sprattus sprattus phalericus* (Risso) (Pisces: Clupeidae) and the formation of its feeding concentrations, *Mor . Ecol . journal*, 7 (3), 14(2008).
16. Burdak V.D. Biology Black Sea whiting (*Odontogadus merlangus euxinus*), *Tr. Sevastop . Biol. Art*, 15, 196-278 (1964).
17. Svetovidov A. I. *Fish Black Sea*, Leningrad: Nauka, 550 (1964).
18. Pashkin A. V., Paraeva O. M., Sergeeva E. V., Pashkina V. Pets and pathogens infectious diseases - infectious and parasitic soaktanty parasitic systems, *Veterinary Medicine pets: Sat Art. – Kazan*, 4, 133-136 (2007).
19. Makarov V. V. Theory of self-regulation of parasitic systems VD Belyakov - paradigm in the doctrine of the epidemic process, *Veterinary Pathology*, 3 (10) 10-13 (2004).
20. Gapishko A.I., Yuriev G.S. Feature prey sprat and its impact on the features of the distribution , formation and decay of commercial concentrations of sprat : research report AzcherNIRO, Kerch, 55-64 (1985).
21. Zavyalov A.V. Interannual features infestation Black Sea sprat *Sprattus sprattus phalericus* (Risso) larvae of nematodes *Hysterothylacium aduncum* (Rud; 1802) in the south- west coast of the Crimea, *Ribno PRESSOL Schmiergeräte GmbH Tel -operation of Ukraine*, 4, 12-17 (2010).
22. Zavyalov A.V., Kuzminova N. S. Peculiarities of interannual fluctuations infestation scad *Trachurus mediterraneus* (Staindachner) nematode *Hysterothylacium aduncum* (Rud; 1802) in the south- west coast of the Crimea, *Ribno PRESSOL Schmiergeräte GmbH Tel -operation of Ukraine*, 2 (67), 25-29 (2010).
23. Zavyalov A.V., Kuzminova N.S. Features infestation whiting *Merlangius merlangius euxinus* nematode *Hysterothylacium aduncum* (Rud., 1802) in the south- west coast of Crimea in different years host of Fish, *Ribno PRESSOL*, 1, 51-54 (2011).
24. Zavyalov A.V., Gutsal D.K., Beloivanenko T.G. Environmental aspects infestation flounder - brill *Psetta maxima maeotica* (L., 1758) nematode *Hysterothylacium aduncum* (Rud., 1802) at the south- western coast of the Crimea, *Modern fisheries and environmental issues Azov-Black Sea region: Materials VII Intern. Conf, Kerch*, 1, 162-166 (2012).

Поступила в редакцию 12.04.2014 г.

УДК 502.753

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕРРИТОРИАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДРЕВОСТОЕВ *JUNIPERUS FOETIDISSIMA* WILLD. В УРОЧИЩЕ СИНАБ-ДАГ

Коренькова О.О.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: o.o.korenkova@mail.ru*

Приведены результаты изучения территориального распределения древостоев *Juniperus foetidissima* Willd., произрастающих на площади Крымского природного заповедника в урочище Синаб-Даг. Результаты проведенных исследований позволили уточнить границы и площадь природной популяции. Поведена также оценка особенностей роста и развития *J. foetidissima* в связи с динамикой условий произрастания, что позволило выявить высотный пояс, наиболее оптимальный для произрастания данного редкого вида.

Ключевые слова: *Juniperus foetidissima* Willd., популяция, территориальное распределение, высотный оптимум.

ВВЕДЕНИЕ

Род можжевельник (*Juniperus* L.) включает в себя 67 видов, входящих в состав 3 секций (секция *Caryocedrus*, секция *Juniperus* и секция *Sabina*). Практически все можжевельники произрастают в северном полушарии от Арктики до субтропиков. На территории Крыма распространены природные популяции пяти видов (*Juniperus communis* L., *Juniperus excelsa* L., *Juniperus foetidissima* Willd., *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus sabina* L.). Из них два включены в красную книгу Украины – можжевельник вонючий (*J. foetidissima*) и можжевельник высокий (*J. excelsa*) [1–3].

J. foetidissima – вечнозеленый средиземноморский мезофанерофит, входящий в состав самой многочисленной секции – *Sabina*. Одно или двудомное дерево высотой до 15 м. Имеет плотную ширококоническую крону. Кора коричневая, на молодых ветвях красновато-бурая. Побеги темно-зеленые четырехгранные около 1,5 мм толщиной. Почти вся хвоя чешуевидная около 2 мм длиной. Встречаются экземпляры с игловидной хвоей [2, 4–8].

Пыление микростробил происходит в апреле-мае. Шишкоягоды на коротких ножках около 10 мм в диаметре темно-бурые с сизым налетом, созревающие на второй год осенью, состоят из 4-6 кроющих чешуй. В шишкоягоде 1-2, реже 3 семени [3, 4, 6, 8].

J. foetidissima встречается в восточном Средиземноморье, Кавказе, Крыму, Турции, Сирии, на Балканском полуострове. Образует чистые или с примесью

других пород можжевельные редколесья. К почве не требователен, растет на щебнистых слаборазвитых почвах меловых отложений [3, 6, 8].

В настоящее время в Крыму известна одна популяция *J. foetidissima*, произрастающая на крутых склонах хребта Синаб-Даг на территории Крымского природного заповедника. В Крыму проходит северная граница его ареал [3].

Природоохранный статус – редкий, узколокализованный с ограниченным ареалом. Изменение численности популяции могут вызывать различные причины, среди которых чрезмерная численность копытных, отсутствие возобновления, слабая конкурентоспособность вида [3, 10, 11].

В верхнем поясе Крымских гор *J. foetidissima* имеет лесообразующее, противозерозионное и почвозащитное значение [6, 12].

J. foetidissima в Горном Крыму изучали многие исследователи, при этом точных данных о площади популяции установлено не было. Так Я.П. Дидух в Красной книге Украины указывает, что общая площадь распространения данного вида составляет около 90 га [3]. Склонная Л.У. с соавторами в своей работе, посвященной рациональному использованию крымского генофонда *J. foetidissima*, приводит схожие данные – около 100 га [9].

Плугатар Ю.В. и Ярыш Н.С. [13], характеризуя особенности распространения можжевельных лесов в Крыму, указывают, что площадь *J. foetidissima* составляет 57,2 га, что соответствует 1,5 % общей площади можжевельных лесов.

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует о весьма значительной дифференциации в оценке отдельных исследователей площади природной популяции *J. foetidissima* на территории урочища Синаб-Даг. Поэтому было принято решение о проведении работ по уточнению площади популяции данного редкого вида, произрастающего в Горном Крыму.

Целью проведенных исследований являлось изучение особенностей территориального распределения природной популяции *J. foetidissima* в Горном Крыму.

Исходя из цели работы, были поставлены следующие задачи: провести картирование границ популяции с использованием геоинтерфейса Google Earth и сопоставить на местности полученные данные с существующей ситуацией; уточнить характеристики площади распространения популяции *J. foetidissima* на территории Крымского природного заповедника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в весенне-осенний период 2013 г. Изучали особенности территориального распределения популяции *J. foetidissima*, произрастающей на крутых склонах хребта Синаб-Даг (крутизна склона составляет около 40°).

Работы проводились в два приема. На первом этапе – картирование, детально-маршрутный метод – на втором.

При картировании использовали геоинтерфейс Google Earth. С его помощью были получены снимки хребта Синаб-Даг в зимний период. Это позволило четко выделить вечнозеленый *J. foetidissima* среди сопутствующих листопадных пород, в

составе которых преобладали граб восточный (*Carpinus orientalis* Mill.) и дуб пушистый (*Qercus pubescens* Willd.) [11].

На втором этапе детально-маршрутным методом с использованием GPS навигации корректировали полученные данные на местности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первый этап исследования показал, что *J. foetidissima* произрастает отдельными группами на высоте от 750 до 1100 м н.у.м., при этом общая площадь популяции составила около 45 га.

Сопоставление данных, полученных методом картирования, с существующей ситуацией позволило выявить, что *J. foetidissima* поднимается до 1300 м н.у.м. Основной массив популяции находится на высоте от 750 до 1250 м н.у.м. В промежутке от 1250 до 1300 м н.у.м. отмечались единичные особи общей численностью около 30 экземпляров.

С учетом полученных данных, были откорректированы границы популяции в Крымском природном заповеднике, в результате чего, общая площадь *J. foetidissima* в районе урочища Синаб-Даг составила 51,6 га.

Для исследования особенностей территориального распределения природной популяции выделили высотные пояса от 750 до 1250 м н.у.м. с интервалом 100 м (рис. 1.). В пределах этих высотных поясов измерялась площадь древостоев.

Полученные данные позволили выявить высотный пояс, наиболее благоприятный для роста и развития *J. foetidissima* в условиях Горного Крыма.

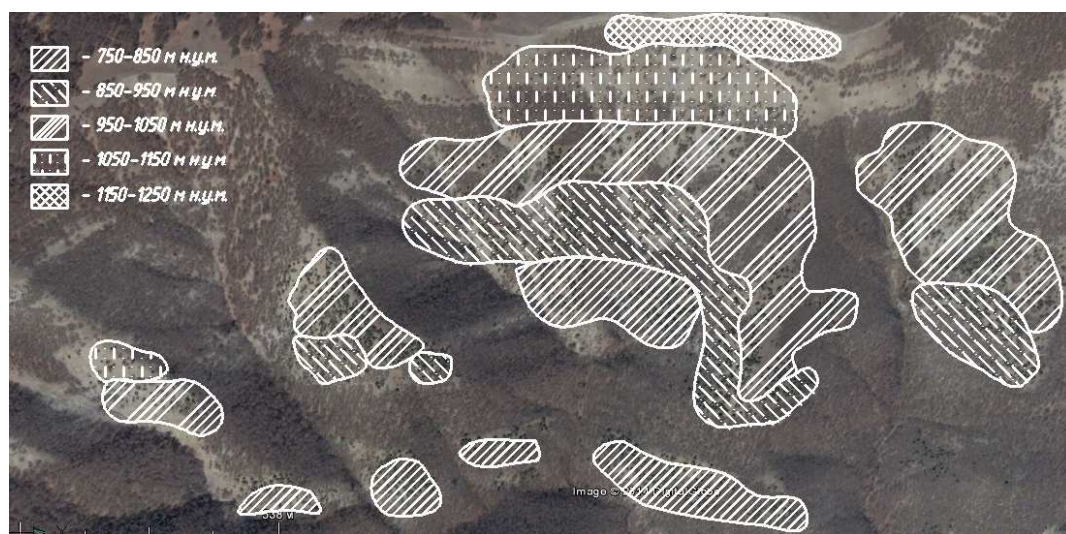


Рис. 1. Распределение высотных поясов.

Из-за большой разреженности особей на высоте от 1250 до 1300 м н.у.м. было принято решение не выделять данный высотный интервал для оценки площади древостоев.

В нижнем поясе хребта Синаб-Даг (750-850 м н.у.м.) выявлена фрагментация древостоя. *J. foetidissima* представлен на этой высоте в виде отдельных локалитетов площадью от 0,6 до 2,7 га. Общая площадь древостоев в этом высотном интервале составляет 7,5 га (рис 1, рис 2).

С увеличением высоты над уровнем моря увеличивается плотность популяции. Основной ее массив (34,3 га или 66,5% от общей площади древостоя) находится на высоте от 850 до 1050 м н.у.м.

На рис. 2 видно, что наименьшая площадь древостоев *J. foetidissima* (2,2 га или 4,3% от общей площади популяции), приходится на высотный пояс 1150 – 1250 м н.у.м. Причиной низкой численности особей в данном поясе являются крайне неблагоприятные орографические условия.

Здесь преобладают скальные полки. Отдельные обломки породы выступают на высоту 20-60 см. Высота гумусового горизонта достигает лишь 10 см. В таких условиях способны выжить лишь отдельные особи, которые в процессе адаптации приобрели стланиковую форму. Они смогли закрепиться на крутых склонах под защитой скальных нагромождений.



Рис. 2 Распределение площади популяции по высотным поясам.

Наибольшая площадь древостоев *J. foetidissima* в Крымском природном заповеднике отмечена на высоте от 950-1050 м н.у.м. и составляет 21,7 га, что составляет 42% от общей площади. Рельеф на этой высоте схож с орографией в основном массиве популяции. Обломки породы почти не выступают на поверхность почвы. По механическому составу почвы легкоглинистые с глубоким залеганием гумусового горизонта.

Анализируя особенности территориального распределения популяции *J. foetidissima*, можно предположить, что высотным оптимумом для роста и развития данного вида в Горном Крыму является пояс в пределах высот 950-1050 м

н.у.м. В этом поясе наблюдается не только большая площадь, но и присутствие наиболее жизнеспособных особей из всей популяции.

Из литературных данных известно, что популяция *J. foetidissima* в Краснодарском крае распространена по Черноморскому побережью от р. Сукко у Анапы до р. Мезыби близ Геленджика на приморских склонах от уровня моря до высоты 300-400 м [14].

Значительная разница благоприятного высотного пояса произрастания крымской популяции *J. foetidissima* от популяции Краснодарского края может быть объяснена рядом лимитирующих факторов, среди которых рубки и раскорчевка можжевеловых лесов для курортного строительства и сельскохозяйственного использования земель в Краснодарском крае [14].

Такие образом, можно отметить высокое значение Крымского природного заповедника в сохранении и поддержании устойчивого развития природных популяций *J. foetidissima* в условиях Горного Крыма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проведенных исследований установлены четкие границы популяции, что в дальнейшем позволит проводить мониторинг динамики ее площади;
2. Проведена оценка и уточненная площади распространения популяции *J. foetidissima* в районе урочища Синаб-Даг. В настоящее время он составляет 51,6 га;
3. Выявлен высотный оптимум для роста и развития особей *J. foetidissima*, в условиях Горного Крыма и он отмечен на высотах от 950 до 1050 м н.у.м., наименее благоприятные условия для произрастания данного вида наблюдаются в верхнем поясе в пределах высот 1150 – 1250 м н.у.м.

Список литературы

1. Кожевников А.П. Экология можжевельника: моногр / А.П. Кожевников, Е.А. Тишкина; отв. ред. С.В. Залесов – Екатеринбург.: Урал. гос. лесотехн. ун-т, 2011. – 144 с.
2. Adams, R. P. The junipers of the world: The genus *Juniperus*. 3rd ed. – Trafford Publ., Victoria, BC, 2011. – 426 с.
3. Дідух Я.П. Червона Книга України. Рослинний світ / Я.П. Дідух. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
4. Алексеев Ю.Е. Деревья и кустарники. Энциклопедия природы России / Алексеев Ю.Е., Жмылев П.Ю., Карпухина Е.А. – М. 1997. – 592 с.
5. Колесников А.И. Декоративная дендрология / Колесников А.И. – М.: Лесная пром-сть, 1974. – 704 с.
6. Дідух Я.П. Екофлора України. Том 1. / Я.П. Дідух та інші. Відпов. ред. Я.П. Дідух. – Київ: Фітосоціоцентр, 2000. – 284 с.
7. Крюкова И.В. Редкие растения и животные Крыма: Справ. / Крюкова И.В. – Симферополь: Таврия, 1988. – 176 с.
8. Новиков А.Л. Определитель хвойных деревьев и кустарников. / Новиков А.Л. – Минск: «Вышэйш. Школа», 1967. – 255 с.
9. Склонная Л.У. Методические рекомендации по рациональному использованию крымского генофонда *Juniperus foetidissima* Willd. / Склонная Л.У., Ругузов И.А., Костина В.П. – Ялта, 1992. – 41 с.
10. Голубев В.Н. Биологическая флора Крыма / Голубев В.Н. – Ялта: НБС-ННЦ, 1996. – 126 с.

11. Колодяженська Т.І. Проблеми збереження ex situ та in situ ялівця смердючого (*Juniperus foetidissima* Willd.) в Україні / Т.І. Колодяженська, О.П. Похильченко, Ю.О. Клименко // Рослинний світ у Червоній книзі України: впровадження Глобальної стратегії збереження рослин. Матеріали II Міжнародної наукової конференції (9-12 жовтня 2012 р., м. Умань, Черкаська область). – Київ: ПАЛІВОДА А.В., 2012 – С. 255-256
12. Бородин А.М. Красная книга СССР: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений. Т.2. Изд. 2-е перераб. и доп. / Бородин А.М., Банников А.Г., Соколов В.Е. и др. – М.: Лесная пром-сть, 1984. – 480 с.
13. Плугатар Ю.В. Ялівець високий (*Juniperus excels* M.B.) у Гірському Криму / Ю.В. Плугатар, Н.С. Яриш // Науковий вісник НЛТУ України. – 2010. – Вип. 20.7 – С. 31-40.
14. Камелин Р.В. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Р.В. Камелин, гл. редколл.: Ю.П. Трутнев и др. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 885 с.

Коренькова О.О. Дослідження особливостей територіального розподілу деревостанів *Juniperus foetidissima* Willd. в урочище Сінаб-Даг / О.О. Коренькова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 96-102.

Наведені результати вивчення територіального розподілу деревостанів *Juniperus foetidissima* Willd., що зростає на території Кримського природного заповідника в урочищі Сінаб-Даг. Результати проведених досліджень дозволили уточнити межі і площу природної популяції. Поведена також оцінка особливостей росту і розвитку *J. foetidissima* у зв'язку з динамікою умов зростання, що дозволило виявити висотний пояс, найбільш оптимальний для зростання даного раритетного виду.

Ключові слова: *Juniperus foetidissima* Willd., популяція, територіальний розподіл, висотний оптимум.

THE INVESTIGATION OF PECULIARITIES OF GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF FOREST STANDS *JUNIPERUS FOETIDISSIMA* WILLD. IN THE TRACT SINAB-DUG

Korenkova O.O.

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: o.o.korenkova@mail.ru

There are given the results of the investigation of geographical distribution of forest stands *Juniperus foetidissima* Willd., growing on the territory of Crimean wildlife preservation in the hole Sinab-Dug. The purpose of done investigations was the study of peculiarities of geographical distribution of natural population of *J. foetidissima* in Mountain Crimea. On the basis of work's purpose, there were set the following tasks: to make the mapping of population's borders with the use of geointerface Google Earth and to compare on the territory received data with the existing situation; to get more accurate characteristics of the square of population's distribution of *J. foetidissima* on the territory of Crimean wildlife preservation.

The investigations were being made in the spring-autumn period of year 2013. The works were being done in two steps. On the first stage – mapping, on the second stage – detailed-route method. For investigation of peculiarities of geographical distribution of natural population there were separated altitudinal belts from 750 to 1250 m below sea level with the interval 100 m. Within the scope of these altitudinal belts the square of forest stands was being measured.

Received data permitted to find the altitudinal belt which is the most favorable for growth and development of *J. foetidissima* in the conditions of Mountain Crimea. Analyzing the peculiarities of geographical distribution of *J. foetidissima* population, it is possible to assume that the high-altitude optimum for growth and development of this species in Mountain Crimea is the belt in the scope of heights 950-1050 m below sea level. In this belt it is being observed not only the biggest square but also the presence of the most viable individuals from the whole population.

Keywords: *Juniperus foetidissima* Willd., population, territorial distribution, optimum altitude

References

1. Kozhevnikov A.P., Tishkina E.A. *Juniperus Ecology*. pp. 144 (Ural. Reg. lesotehn. University, Yekaterinburg, 2011).
2. Adams, R. P. *The junipers of the world: The genus Juniperus*. 3rd ed. pp. 426 (Trafford Publ., Victoria, BC, 2011).
3. Didukh Y.P. *Red Book of Ukraine*. pp. 900 (Globalkonsalting, Kiev, 2009).
4. Alexeev Y.E. Zhmylev Y.E., Karpukhina E.A. *Trees and shrubs. Encyclopedia of Russian nature*. pp. 592 (Moscow, 1997).
5. Kolesnikov A.I. *Decorative Dendrology*. pp. 704 (Forest Engineering Industry, Moscow, 1974).
6. Diduh Y.P. *Ekoflora Ukrainy*. pp. 284 (Fitosotsiotsentr, Kiev, 2000).
7. Kryukova I.V. *Rare plants and animals of the Crimea*. pp. 176 (Tavriya, Simferopol, 1988).
8. Novikov A.L. *Determinant of coniferous trees and shrubs*. pp. 255 (Vyscheysh. School, Minsk, 1967).
9. Sklonnaya L.U., Ruguzov I.A., Kostina V.P. *Guidelines for the rational use of the gene pool of the Crimean Juniperus foetidissima Willd.* pp. 41 (Yalta, 1992).
10. Golubev V.N. *Biological flora of Crimea*. pp. 126 (NBG-NSC, Yalta, 1996).
11. Kolodyazhenska T.I., Pohilchenko O.P., Klimenko J.O. Preservation ex situ and in situ smelly juniper (*Juniperus foetidissima* Wild.) in Ukraine, *Abstracts of II International Scientific Conference "Flora in the Red Book of Ukraine: the implementation of the Global Strategy for Plant Conservation"* (Palyvoda A.V., Kyiv, 2012), p. 255.
12. Borodin A.M., Bannikov A.G., Sokolov V.E. *USSR Red Book: Rare and endangered species of animals and plants*. pp. 480 (Forest Engineering Industry, Moscow, 1984).
13. Plugatar Y.V. Jarisch N.S. High Juniper (*Juniperus excels* M.B.) in the Crimean Mountains, *Scientific Bulletin of National Forestry University of Ukraine*, **20.7**, 31 (2010).
14. Kamelin R.V. *Red Book of the Russian Federation (plants and fungi)*. pp. 885 (KMK, Moscow, 2008).

Поступила в редакцию 22.04.2014 г.

УДК 796.2.071.5

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ МОЗГА НА ВОЗМОЖНОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ПСИХИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ В ЕДИНОБОРСТВАХ

Коробейникова Л.Г.

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
E-mail: lesia.66@mail.ru*

В статье представлены данные о влиянии функциональной межполушарной асимметрии головного мозга на особенности проявления психических функций, таких как восприятие, внимание, мышление в спорте высших достижений в борьбе. Обследовано 34 элитных спортсмена высокой квалификации (все члены сборной команды Украины по греко-римской борьбе), в возрасте 20-26 лет.

Для определения функциональной межполушарной асимметрии мозга использовался тест «Полезависимость». Для изучения особенностей процессов зрительного восприятия вербальных и невербальных раздражителей, оперативного мышления (активности и сообразительности) использовались методики «Установление закономерностей» и «Перцептивная скорость». Все методики являлись составными аппаратно-программного психодиагностического комплекса «Мультипсихометр-05».

Для анализа особенностей проявления функциональной межполушарной асимметрии мозга обследуемые спортсмены были разделены на две группы. Первая группа – спортсмены с наличием функциональной асимметрии мозга по тесту «Полезависимость», 18 человек, среди которых выявлено: шесть человек с доминированием левого полушария и двенадцать человек с доминированием правого полушария мозга. Вторая группа – спортсмены с наличием симметрии полушарий мозга, всего 16 человек. У элитных спортсменов-единоборцев наличие функциональной асимметрии мозга (без уточнения доминирования соответствующего полушария) отражается в высшей зависимости от воздействия внешней среды («адаптивная» когнитивная стратегия восприятия и переработки информации). Наличие симметрии мозга отражается в высшей независимости от информации из внешней среды («автономная» когнитивная стратегия восприятия и переработки информации).

Выявлено, что группа борцов с наличием межполушарной симметрии мозга, по уровню переработки информации, имеет лучшие возможности проявления когнитивных функций, в частности, оперативного мышления, качественных характеристик восприятия и переработки внешней информации, по сравнению со спортсменами, которые имеют функциональную асимметрию полушарий головного мозга.

Ключевые слова: функциональная межполушарная асимметрия мозга, когнитивные функции, переработка информации, принятие решений, элитные спортсмены.

ВВЕДЕНИЕ

Психоэмоциональное напряжение с возрастанием физических нагрузок в некоторых видах спорта, к которым относятся единоборства, достигает максимального проявления, особенно в соревновательной деятельности. Психические процессы у спортсменов при напряженной мышечной деятельности обеспечиваются физиологическими функциями организма. Однако не всегда можно найти причинно-следственную связь между психофизиологическими

индивидуально-типологическими и средовыми характеристиками, которые изменяются вследствие влияния фактора спортивной деятельности [1, 2].

Одной из фундаментальных, генетически детерминированных, закономерностей деятельности мозга – является функциональная асимметрия полушарий головного мозга. В исследованиях показано, что индивидуальный профиль асимметрии мозга составляет основу индивидуальной двигательной деятельности человека и регламентирует особенности мозговой организации движений человека [3].

Работоспособность головного мозга, индивидуальный профиль функциональной асимметрии полушарий мозга и особенности проявления функциональной подвижности нервных процессов указывают на способность нервной системы обеспечить максимально возможную для каждого индивида скорость сенсомоторных реакций, а также мыслительной деятельности. Вышеуказанные устойчивые показатели отражают, с одной стороны, успешность процессов восприятия, переработки информации и принятия решения, а с другой – физиологическую ценность спортивной деятельности человека, в частности в единоборствах [1, 4].

Учитывая характер межполушарной организации головного мозга, по уровню её проявления, возможно оптимизировать профессиональную ориентацию, спортивный отбор и индивидуальный подход к подготовке спортсменов на различных этапах многолетней тренировки. Индивидуальный профиль асимметрии (ИПА) полушарий мозга тесно связан с адаптацией и поведением личности в экстремальных условиях, вербальным и невербальным интеллектом, стратегией восприятия и переработки информации, стабильностью гомеостаза, эмоциональными, гормональными, вегетативными, а также, иммунными реакциями [5, 6].

Существующее представление о четком распределении спортсменов единоборцев, по проявлению моторной асимметрии, на «правшей», «левшей» и «амбидекстров», является несколько упрощенным и требует дальнейшего изучения. Малоизученной проблемой остаётся взаимосвязь особенности проявления функциональной асимметрии, по уровню переработки информации, и успешностью в спорте высших достижений [7].

На современном этапе, исследования в области функциональной межполушарной асимметрии соотносят с функциональными состояниями и состояниями разных отделов нервной системы [8].

Цель работы. Изучить взаимосвязь функциональной межполушарной асимметрии мозга с проявлением психических функций у спортсменов-борцов высокой квалификации.

Главная задача исследования состояла в том, чтобы выявить влияние функциональной асимметрии полушарий головного мозга, по уровню переработки информации, на особенности проявления когнитивных функций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 34 элитных спортсменов (членов национальной сборной команды Украины по греко-римской борьбе), в возрасте 20-26 лет. Все спортсмены имели высокую квалификацию от мастера спорта до заслуженных мастеров спорта и стаж занятий борьбой не менее 10 лет.

Для определения функциональной межполушарной асимметрии мозга использовался тест «Полезависимость». Оригинальная версия теста предусматривала исследование преобладания одного уровня переработки смысловой (семантической) информации, который характерен для левого полушария мозга, над другим физическим (иконическим) уровнем, характерным для правого полушария мозга [9]. В рамках единственного испытания оказалось возможным получить полностью сбалансированный по вероятностным характеристикам октет из сочетаний 3 признаков: цвета букв, наименования цвета (смысла) и типа инструкции.

Процедура проведения теста состояла из последовательно предъявляемых в центре экрана сигналов – слов «красный» и «зелёный», каждое из которых было написано красным или зелёным цветом. Кроме того, в каждой экспозиции, в нижней части экрана появлялось слово, написанное нейтральным цветом (кондиционирующий признак, КП), которое означало способ реагирования: по «смыслу» или «цвету». Возможным было всего 8 вариантов комбинаций трех переменных. Задача испытуемого была – реагировать на сигналы в соответствии с КП, причем «красному сигналу» всегда соответствует правая кнопка, а «зеленому» – левая. Если отображался КП «смысл», «красным сигналом» являлось слово «красный» независимо от цвета букв, которым оно написано. Если отображался КП «цвет», «красным сигналом» было слово, которое написано красными буквами, независимо от смысла. По результатам тестирования определялись стандартизованные показатели: общая эффективность (сочетание скорости и точности), индекс асимметрии (характеризующий скалярную величину доминирования одного способа переработки информации над другим (без указания полюса доминирования)), индекс левополушарного доминирования, индекс полнезависимости (преобладание зависимости/независимости от воздействий внешней среды).

Для изучения особенностей процессов восприятия вербальных раздражителей, мышления (активности и сообразительности) использовалась методика «Установление закономерностей». Суть методики состояла в задании, где необходимо было определить какое из пяти слов, на мониторе компьютера, может быть зашифровано, в указанной выше последовательности символов. В каждом задании (а их 25) мог быть только один правильный вариант ответа. По результатам тестирования определялись стандартизованные показатели: производительность, скорость, точность и эффективность.

Оценку характеристик зрительного восприятия невербальных раздражителей, оперативного мышления исследовали по методике «Перцептивная скорость». Суть ее в определении оценки скорости и точности соотнесения геометрических фигур, с целью идентификации фигуры, частью которой являлся тестовый сигнал (фрагмент фигуры, который составлял 75% или 50% от целого). Данная методика исследовала структурность восприятия, т.е. способность человека отражать общую структуру предмета. Определялись стандартизованные показатели: производительность, скорость, точность и эффективность.

Все методики являлись составными аппаратно-программного психодиагностического комплекса «Мультиспихометр-05».

Статистический анализ данных проводился с помощью программного пакета Statgraphics 5.1 (Manugistics, Inc.). В связи с тем, что полученные выборки данных не имели нормального распределения, для оценки достоверных отличий, были использованы методы непараметрической статистики на основе критерия знаковых ранговых сумм Вилкоксона. Для демонстрации распределения данных использовали интерквартильный размах, указывая первую (25% перцентиль) и третью квартиль (75%) [10, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для анализа особенностей проявления функциональной межполушарной асимметрии мозга обследуемые спортсмены были разделены на две группы. Первая группа – спортсмены с наличием функциональной асимметрии мозга по тесту «Полезависимость», 18 человек, среди которых выявлено: шесть человек с доминированием левого полушария и двенадцать человек с доминированием правого полушария мозга. Вторая группа – спортсмены с наличием симметрии полушарий мозга, всего 16 человек.

Анализ средних значений показателей методики «Полезависимость» выявил отсутствие достоверных отличий по показателям: *полезависимость*, функциональная асимметрия и общая эффективность у спортсменов, которых мы отнесли к первой группе, с разным доминированием полушарий мозга, а значит с наличием функциональной асимметрии головного мозга. По показателю левополушарное доминирование выявлена достоверная разница между этими группами спортсменов. Исходя из полученного результата, дальнейшее рассмотрение особенностей функциональной межполушарной асимметрии мозга, у спортсменов высокой квалификации, целесообразно было проводить, объединив группы по признаку наличия функциональной асимметрии полушарий мозга, по уровню переработки информации, (без учета лево- или правополушарного доминирования мозга) и отсутствия асимметрии (наличия симметрии) полушарий мозга.

В табл. 1 приведены средние значения показателей по тесту «Полезависимость» у спортсменов-борцов двух групп, с наличием функциональной асимметрии и симметрии полушарий мозга. Проведенный анализ обнаружил наличие достоверной разницы по показателям *полезависимости* и функциональной асимметрии. По показателю общая эффективность наблюдается явная тенденция, которая выше у спортсменов с наличием функциональной асимметрии коры головного мозга. Полученный результат по показателю *полезависимость* свидетельствует о том факте, что наличие функциональной асимметрии мозга у элитных спортсменов (без уточнения доминирования одного из полушарий) отражается в высшей зависимости от воздействия внешней среды, то есть, необходимости ориентироваться на внешние эталоны или мнения других для упорядочения своих впечатлений в условиях восприятия, переработки информации и принятия решений.

Выявленный характер особенности восприятия внешней информации, у элитных борцов с наличием асимметрии полушарий мозга, необходимо охарактеризовать как одну из когнитивных стратегий восприятия и переработки информации, которую условно можно отметить как «адаптивную».

Таблица 1

Значения показателей теста «Полезависимость» у спортсменов высокой квалификации с наличием функциональной асимметрии и симметрии полушарий мозга (n=34)

Показатели	Группа с наличием функциональной асимметрией мозга (n=18)			Группа с наличием функциональной симметрией мозга (n=16)		
	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Полезависимость (усл.ед.)	0,75	0,70	0,86	0,88*	0,78	0,90
Левополушарное доминирование (усл.ед.)	0,77	0,71	1,19	0,97	0,91	1,00
Функциональная асимметрия (усл.ед.)	31,28	21,73	45,57	6,86*	3,24	9,52
Общая эффективность (усл.ед.)	1818,55	1474,70	2837,00	1512,10	1337,70	1619,70

Примечание: * – достоверные различия между средними показателями анализируемых групп ($p < 0,05$).

Наличие симметрии мозга отражается в проявлении большей независимости от информации из внешней среды и ориентации на собственное мнение, такую особенность можно охарактеризовать как «автономную» когнитивную стратегию восприятия и переработки информации.

Анализ табл. 2, средних значений показателей теста «Установление закономерностей» засвидетельствовал наличие достоверных отличий по показателю производительность между группами элитных борцов, с наличием функциональной асимметрии и симметрии мозга. По показателю эффективность наблюдается тенденция, которая выше в группе симметричных спортсменов. Данный тест направлен на определение когнитивных способностей к восприятию информации различного уровня сложности с дифференцированием раздражителей второй сигнальной системы. Однако, производительность выполнения теста зависит не столько от количества переработанных информационных стимулов, сколько от способности дифференцировать внешнюю информацию, с учетом раздражителя, направленного на вторую сигнальную системы.

Таким образом, у спортсменов с наличием симметрии мозга («автономная» когнитивная стратегия восприятия и переработки информации) выявлено достоверно выше уровень производительности и тенденцию к лучшей эффективности переработки информации и принятию решений, по сравнению со второй группой. Этот факт свидетельствует о более высоком уровне способности к восприятию, перекодированию знаковой информации, с участием внимания и оперативного мышления.

Таблица 2

Значения показателей по тесту «Установление закономерностей» у спортсменов высокой квалификации с наличием функциональной асимметрии и симметрии мозга (n=34)

Показатели	Функционально асимметричные (n=18)			Функционально симметричные (n=16)		
	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Производительность (усл.ед)	19,00	14,50	20,50	21,00*	18,50	22,00
Скорость (мс)	18171	15728	21085	18214	16414	22671
Точность (усл.ед)	0,80	0,75	0,93	0,88	0,78	0,91
Эффективность (усл.ед)	60,00	49,50	67,20	69,04	53,14	76,81

Примечание: * – достоверные различия между средними показателями анализируемых групп ($p < 0,05$).

В табл. 3 приведены средние значения показателей теста «Перцептивная скорость». Анализ показал, что почти все показатели теста: производительность, скорость и точность у борцов высокой квалификации с наличием симметрии мозга достоверно выше, чем в группе спортсменов с наличием функциональной асимметрии мозга.

Обращает на себя внимание наличие достоверно более высоких значений скорости (времени) переработки информации в перцептивном тесте у группы спортсменов с наличием функциональной симметрии мозга. По сути, показатель скорости отражает уровень восприятия и переработки информации при дифференциации невербальных раздражителей.

Таблица 3

Значения показателей теста «Перцептивная скорость» у спортсменов высокой квалификации с наличием функциональной асимметрии и симметрии мозга (n=34)

Показатели	Функционально асимметричные (n=18)			Функционально симметричные (n=16)		
	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Продуктивность (усл.ед)	58,50	55,00	66,00	65,00*	58,00	82,00
Скорость (мс)	1972	1925	2240	2113*	1957	2620
Точность (усл.ед)	0,95	0,93	0,97	0,98*	0,93	1,00
Эффективность (усл.ед)	46,20	43,35	48,68	47,17	38,20	60,89

Примечание: * – достоверные различия между средними показателями анализируемых групп ($p < 0,05$).

Можно заключить следующее, что наличие функциональной межполушарной симметрии мозга («автономная когнитивная стратегия»), связано с лучшими когнитивными способностями к быстрому и качественному восприятию, переработке информации и принятию решений, по сравнению со спортсменами, имеющими функциональную межполушарную асимметрию полушарий головного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у элитных спортсменов-единоборцев наличие функциональной асимметрии мозга (без уточнения доминирования соответствующего полушария) отражается в высшей зависимости от воздействия внешней среды («адаптивная» когнитивная стратегия восприятия и переработки информации). Наличие симметрии мозга отражается в высшей независимости от информации из внешней среды («автономная» когнитивная стратегия восприятия и переработки информации).

Выявлено, что группа борцов с наличием межполушарной симметрии мозга, по уровню переработки информации, имеет лучшие возможности проявления когнитивных функций, в частности, внимания, оперативного мышления, качественных характеристик восприятия и переработки внешней информации, по сравнению со спортсменами, которые имеют функциональную асимметрию полушарий головного мозга.

Список литературы

1. Фомина Е.В. Функциональная асимметрия мозга и адаптация к экстремальным спортивным нагрузкам / Е.В.Фомина. – Омск: СибГУФК, – 2005. –196 с.
2. Левашов О.В. Современные подходы к изучению функциональной асимметрии полушарий мозга / О.В.Левашов // Асимметрия. –Т. 6. –№ 4. –2012. – С.40-50.
3. Погадаева О.В. Влияние электроэнцефалографического биоуправления на двигательные функциональные асимметрии спортсменов / О.В. Погадаева // Бюллетень СО РАМН. – 2004. – №3(113). – С. 110-112.
4. Фомина Е.В. Латеральный фенотип высококвалифицированных спортсменов и элементарные формы проявления быстроты / Е.В. Фомина // Теория и практика физической культуры. – 2006. – № 3. – С. 43-45.
5. Бетелева Т.Г. Функциональная специализация полушарий при сопоставлении наличного и предыдущего стимулов / Т.Г.Бетелева // Физиология человека. – 2000. – Т. 26, – № 3. – С. 21-30.
6. Кураев Г.А. Формирование функциональной межполушарной асимметрии мозга в динамике обучения / Г.А. Кураев, И.В. Соболева, Л.Г. Сороколетова / В кн.: Функциональная межполушарная асимметрия. –М.: Научный Мир, – 2004. – С. 125-262.
7. Коробейников Г.В. Психофизиологические механизмы умственной деятельности человека: монография / Коробейников Г.В. – К.: «Украинский фитосоциологический центр», 2002. –123 с.
8. Факторы, определяющие динамические свойства, функциональной межполушарной асимметрии / В.Ф. Фокин, Н.В.Пономарева, М.В. Кротенкова, Р.Н. Коновалов [и др.] // Асимметрия. –Т. 5. –№ 1. –2011. – С. 5-20.
9. Вольф Н.В/ Полушарная асимметрия при разных способах предъявления стимулов в задаче Струпа / Н.В. Вольф, М.А. Онищенко, А.О. Брызгалов // Бюлл СО РАМН, 2007. – №3. – С. 125-134.
10. Реброва О.Ю. Описание процедуры и результатов статистического анализа медицинских данных в научных публикациях / О.Ю. Реброва // Международный журнал медицинской практики. – 2000. – № 4. – С. 43-46.
11. Shannon C.E. A mathematical theory of communication / C.E. Shannon // Bell. System. Tech.J. –1948.– № 27. – P.379-385.

Коробейникова Л.Г. Вплив рівня функціональної міжпівкульової асиметрії мозку на можливості прояву психічних функцій в єдиноборствах / Л.Г. Коробейникова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 103-112.

У статті представлено дані про вплив функціональної межкульової асиметрії головного мозку на особливості прояву психічних функцій, таких як сприйняття, увага, мислення в спорті вищих досягнень у борців. Обстежено 34 елітних спортсмена високої кваліфікації (всі члени збірної команди України з греко- римської боротьби), у віці 20-26 років. Для аналізу особливостей прояву функціональної межкульової асиметрії мозку спортсмени були розділені на дві групи. Перша група - спортсмени з наявністю функціональної асиметрії мозку по тесту «полезалежні», 18 осіб, серед яких виявлено: шість осіб із домінуванням лівої півкулі і дванадцять осіб із домінуванням правої півкулі мозку. Друга група - спортсмени з наявністю симетрії півкуль мозку, всього 16 осіб. У елітних спортсменів- єдиноборців наявність функціональної асиметрії мозку (без уточнення домінування відповідного півкулі) відображається у вищій залежності від впливу зовнішнього середовища (« адаптивна » когнітивна стратегія сприйняття і переробки інформації). Наявність симетрії мозку відображається у вищій незалежності від інформації із зовнішнього середовища (« автономна » когнітивна стратегія сприйняття і переробки інформації). Виявлено, що група борців з наявністю межполушарної симетрії мозку, за рівнем переробки інформації, має кращі можливості прояву когнітивних функцій, зокрема, оперативного мислення, якісних характеристик сприйняття і переробки зовнішньої інформації, у порівнянні із спортсменами, які мають функціональну асиметрію півкуль головного мозку.

Ключові слова: функціональна міжпівкульова асиметрія мозку, когнітивні функції, переробка інформації, прийняття рішень, елітні спортсмени.

INFLUENCE OF LEVEL OF FUNCTIONAL HEMISPHERIC ASYMMETRY OF THE BRAIN AT THE POSSIBILITY OF MANIFESTATION OF MENTAL FUNCTIONS IN THE COMBAT SPORT

Korobeinikova L.G.

*Kiev national University named Taras Shevchenko, Kiev, Ukraine
E-mail: lesia.66@mail.ru*

The aim was to examine the relationship of functional interhemispheric asymmetry of the brain with the manifestation of mental functions in elite wrestlers.

The article presents data on the impact of functional hemispheric asymmetry of the brain to particular manifestations of mental functions such as perception, attention, thinking in elite athletes in the fight. Were examined 34 elite athlete (members of the Ukrainian national team in Greco-Roman wrestling), aged 20-26 years.

For determine the functional hemispheric were used the test of brain asymmetry "field dependence". To study the processes of visual perception of verbal and nonverbal stimuli, operational thinking (activity and uptake) used the method "Establishment of laws" and "Perception speed." All methods are an integral hardware and software complex psychodiagnostic "Multipsihometr-05."

To analyze the features of display functional hemispheric asymmetry of the brain surveyed athletes were divided into two groups. The first group - the athletes with the presence of functional brain asymmetry in the test "field dependence", 18 people, including identified six people with the dominance of the left hemisphere and twelve men

with dominance of the right hemisphere of the brain. The second group - the athletes with the presence of symmetry hemispheres of the brain, just 16 people.

The result is testified that functional asymmetry of brain in elite athletes (without specifying the dominance of one hemisphere) reflect in high correlation with external environment. This reflect that the need to rely on external standards or the opinions of others to organize their impressions in terms of perception, information processing and decision making. The determined of the peculiarities of perception of external information in elite wrestlers with the presence of asymmetry of the hemispheres of the brain, can need to be characterized as one of the strategies of cognitive perception and information processing, which may be arbitrarily noted as "adaptive". The presence of brain symmetry is reflected in the manifestation of greater independence from the information from the external environment and orientation to their own opinion, such a feature can be described as "autonomous" cognitive strategy perception and information processing.

Average values of the test "Establishment of laws" testified the presence of significant differences in terms of performance between groups of elite wrestlers with the presence of functional asymmetry and symmetry of the brain. In terms of efficiency trend, is higher level in the group of symmetric athletes. This test aims to determine the cognitive abilities to perceive information of varying levels of difficulty with differentiation stimuli second signal system. This fact indicates a higher level of ability to perceive, transcoding character information involving attention and operational thinking. However, the performance of the test depends not only on the amount of information processed stimuli, but on the ability to differentiate the external information, taking into account the stimulus aimed at the second signal system.

Analysis of the average values of the indicators test "Perception speed" showed that almost all test indicators: productivity, speed and accuracy of elite wrestlers with the presence of symmetry of the brain was significantly higher than in the group of athletes with the presence of functional brain asymmetry.

Noteworthy is the presence of significantly higher speed (time) of information processing in the perceptual test in a group of athletes with the presence of functional brain symmetry. In fact, the speed indicator reflects the level of perception and information processing during the differentiation of non-verbal stimuli.

Following can be concluded that the presence of functional hemispheric symmetry of the brain ("autonomous cognitive strategy"), associated with better cognitive abilities in a rapid and quality perception, information processing and decision-making, compared with athletes who have functional hemispheric asymmetry of the cerebral hemispheres.

Thus, the functional brain asymmetry (without specifying the corresponding hemisphere dominance) is reflected in the higher depending on the external environment ("adaptive" strategy cognitive perception and information processing) of elite athletes. The presence of symmetry is reflected in the higher brain independent of information from the environment ("autonomous" cognitive strategy perception and information processing).

Revealed that a group of fighters with the presence of inter-hemispheric symmetry of the brain, the level of information processing, has the best possible manifestation of cognitive functions, in particular, attention, operational thinking, qualitative characteristics

of the perception and processing of external information, compared with athletes who have a functional cerebral asymmetry brain .

Keywords: functional hemispheric asymmetry of the brain, cognitive function, information processing, decision making, elite athletes.

References

1. Fomina E.V. Fynktsionalnay assimetriy mothga i addaptaziy k ekstremalnym sportivnym nagrytkam [Function asymmetry brain and adaptation with sport load].-Omsk,2005.-196p.
2. Levashov O.V. Svreemenuy podhodu k itycheniy fynktsionalnay assimetriy mothga [Actual methods in study function brain asymmetry] Asymmetry V.6- N4. 2012.-P.40-50.
3. Pogadaeva O.V. Vliyinyy electroenzefalograficheskogo bioupravleniy na dvigatelnye funktsionalnye assimetrii sportsmenov [Influents electroencephalographic biocontrols on movement function asymmetry sportsmen] Scientific messages SO RAMN. 2004. –№3(113). – P. 110-112.
4. Fomina E.V. Lateralnyu fenotip vysokokvalifitsirovanyh sportsmenov i elementarnye formy poyvleniy bystryoty [Laterals phenotype of sportsmen hitch classis and elements from rapidity]. Theory and practice physical culture. Vol. 3.- 2006.- P.558
5. Beteleva T.G. Fynktsionalnay spetsialitaziy polysharii pri sopostavlenii nalichnogo i predydushhego stimulov [Functions specialists half sphere on deferens past and last stimulus]. Physiology human.- 2000, V.26, №.3-P.21-30
6. Kyraev G.A. at ath. Formirovanie fynktsionalnay assimetriy mothga v dinamike obychniy [Forming function asymmetry brain in dynamic of study]. – Science word. 2004. – P. 125-262.
7. Korobeinikov G.V. Psihophysiologycheskie mehanithmy ymstvenoy deytelnosti cheloveca: monografiy [Psychophysiology's mechanics thought human: monographic]. K.: Ukraine's fitosociology centrum. 2002.123p.
8. Fokin V.F. at ath. Faktory opredelyushie dinamicheskie cvoistva fynktsionalnay assimetriy mothga [Faktory determination function asymmetry brain] Asymmetry V.5- N1. 2011.-P.5-20.
9. Volf N.V. at ath. Fynktsionalnay assimetriy mothga pri rathnyh sposobah stimulov [Function asymmetry brain of deferens method of stimulus] Scientific messages SO RAMN. 2007. –№3. – P. 125-134.
10. Rebrova O.Y. Opisanie prozedyru I rethyltatov matematicheskgo analitha medizinskih danyh [Description procedure mathematic analyze in medicine]. International Journal medicine practices – 2000. – № 4. – P. 43-46.
11. Shannon C.E. A mathematical theory of communication. *Bell. System. Tech.J.* –1948.– № 27. – P.379-385.

Поступила в редакцию 27.04.2014 г.

УДК 612.014.42./019:591.112.1:599.323.4

УЧАСТИЕ ОPIOИДНОЙ СИСТЕМЫ В ИЗМЕНЕНИЯХ НОЦИЦЕПЦИИ МЫШЕЙ ПРИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ЭКРАНИРОВАНИИ

Костюк А.С.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: alexkostyuk@mail.ru*

В экспериментах на мышцах подтверждены данные об изменении активности опиоидной системы, полученные ранее на моллюсках. Подтверждено, что активность опиоидной системы на разных этапах действия электромагнитного фактора изменяется неодинаково: снижение ее активности, в силу чего прогрессирует гипералгезия, имеющая место в начальный период пребывания животных в условиях экранирования, далее ее активация (II фаза), результатом чего является нивелирование антиноцицептивного эффекта электромагнитного экранирования. III стадия – прогрессирующее уменьшение активности опиоидной системы, в силу чего антиноцицептивный эффект постепенно редуцируется.

Ключевые слова: опиоидная система, электромагнитное экранирование, налоксон, ноцицепция, мышцы.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение механизмов действия электромагнитных факторов привлекает внимание многих исследователей. Ранее нами были показаны фазные изменения ноцицептивной чувствительности моллюсков *Helix albescens* при действии ослабленного электромагнитного поля (ЭМП), а также ЭМП сверхнизкочастотного и крайневых высокочастотного диапазонов [1, 2]. Выявлены сходства и различия в действии этих факторов. Однако механизмы изменения ноцицепции под влиянием данных факторов остаются не изученными.

В конце XX в. А.Н. Фреу высказал предположение о том, что в ответ на действие электромагнитных факторов различной природы и интенсивности изменяется активность опиоидной системы, которая является древней сигнальной системой [3]. В дальнейшем были получены многочисленные экспериментальные данные, подтверждающие, что ЭМП модулируют разнообразные физиологические процессы, в регуляции которых принимает участие эта система.

Достаточно подробно изучены изменения болевой чувствительности и роль опиоидов в этом процессе в экспериментах на животных [4], в клинических наблюдениях [5-7] при действии ЭМП крайневых высокочастотного диапазона.

Кроме того, ранее нами была показана роль опиоидной системы в изменениях ноцицепции беспозвоночных животных – наземных моллюсков *Helix albescens* – в условиях ослабленного ЭМП электромагнитным экранированием (ЭМЭ) [1]. Однако участие опиоидов в изменениях ноцицепции позвоночных животных,

обусловленных многодневным действием ослабленного ЭМП, не изучено. В связи с изложенным целью исследования явилось выявление роли опиоидной системы в изменениях ноцицепции мышей при ЭМЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на половозрелых лабораторных мышах-самцах весом 10 ± 2 г с соблюдением общих принципов биоэтики в соответствии с международными принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей (2010), под контролем комиссии по биоэтике Таврического национального университета имени В.И. Вернадского.

Для реализации поставленной цели было проведено несколько серий экспериментов. В каждой серии животных делили на две равноценные группы. Животных обеих групп помещали в ящики из светонепроницаемого пластика, крышки и стенки которых имели вентиляционные отверстия. Обеспечивался свободный доступ мышей к стандартному для грызунов корму и воде. Контейнеры с животными экспериментальной группы ($n=30$) помещались в экранирующую камеру ежедневно с 13^{00} до 9^{00} ч следующего дня, т.е. они находились в условиях ЭМЭ 20 часа в сутки в течение 10 дней.

Ящики с животными контрольной группы ($n=30$) находились за пределами камеры в той же комнате. Для животных обеих групп соблюдался одинаковый режим температуры ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), влажности, освещенности, шума. Ежедневно с 9^{00} до 13^{00} ч животных обеих групп извлекали из ящиков для тестирования и уборки клеток. Освещенность внутри и вне камеры, а также внутри ящиков с животными обеих групп измерялась с помощью люксметра ТКЛ-ПКМ (модель 63). Внутри ящиков освещенность колебалась от 0,1 до 0,2 лк, внутри экранирующей камеры, а также в лаборатории, где содержались крысы контрольной группы, была такого же уровня, а в лаборатории, в которой проводили тестирование, уборку клеток и т.д., колебалась от 480 до 500 лк. Таким образом, животные находились в условиях темнота : свет 20 : 4 ч.

В каждой из описанных групп животные были разделены на три подгруппы: животные первой подгруппы оставались интактными (контроль), животным второй подгруппы вводили налоксон (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA): – внутрибрюшинно в дозе 5 мг/кг, мышам третьей подгруппы вводился эквивалентный объем физиологического раствора. Каждая подгруппа состояла из 10 мышей.

Ослабление фонового ЭМП достигалось применением экранирующей камеры размером $2 \times 3 \times 2$ м, изготовленной из двухслойного железа «Динамо». Коэффициент экранирования $V_{\text{ДС}}$, измеренный с помощью феррозондового магнитометра, составляет для вертикальной составляющей 4,4, для горизонтальной – 20. Изменялась также спектральная плотность магнитного шума в камере как в области ультранизких (от 2×10^{-4} Гц до 0,2 Гц), так и в области радиочастот (от 15 Гц до 100 кГц). В области сверхнизких частот измерения производились с помощью феррозондового магнитометра в паре со спектроанализатором, в области

радиочастот – индукционным методом. Внутри камеры для частот выше 170 Гц и в области частот от 2×10^{-3} до 0,2 Гц уровень спектральной плотности магнитного шума ниже $10 \text{ нТл/Гц}^{0.5}$. Коэффициент экранирования камеры на частотах 50 и 150 Гц порядка трех. В области частот от 150 Гц до 100 кГц происходит слабое экранирование, тогда как на частотах больше 1 МГц имело место полное экранирование.

Таким образом, в нашем исследовании имело место умеренное ослабление как постоянной, так и переменной компонент магнитного поля Земли, в отличие от значительных (100 и более раз) уменьшении таковых, применяемого в подавляющем большинстве исследований [8-9].

Регистрацию показателей реакции избегания проводили у каждого животного ежедневно на свету до нормализации параметров ноцицепции (10 суток).

О состоянии термоноцицептивной чувствительности животных судили по латентному периоду (ЛП) реакции избегания в тесте «горячая пластинка», для этого использовалась металлическая пластинка, нагреваемая электрическим током до 45°C . Мышь помещали на пластинку и с помощью секундомера регистрировали латентный период – время, через которое появлялись первые болевые реакции (отдергивание и лизание конечностей) [10]. В этом тесте животному предъявляли по три попытки (через три минуты друг за другом), затем вычисляли среднее арифметическое из трех измерений.

Действие ЭМЭ на параметры термоноцицепции оценивалось по коэффициенту его эффективности (КЭ) [11-12]:

$$K_{Эмэ} = \frac{(ЛП_{эмэ} - ЛП_{к}) \pm (\sigma_{эмэ} + \sigma_{к})}{(ЛП_{к} \pm \sigma_{к})} \cdot 100\% \quad (1),$$

где $K_{Эмэ}$ – коэффициент эффективности ЭМЭ, $ЛП_{эмэ}$ – значение ЛП в группе животных, подвергнутых ЭМЭ, $ЛП_{к}$ – значение ЛП в контрольной группе животных, $\sigma_{эмэ}$ и $\sigma_{к}$ – среднеквадратические отклонения измерений в опыте и контроле соответственно.

Отрицательные значения этого коэффициента свидетельствуют о развитии состояния относительной гипералгезии (значения ЛП меньше, чем в группе контроля), а положительные – о состоянии гипоалгезии.

Влияние налоксона на параметры ноцицепции животных оценивалось по коэффициенту его эффективности ($K_{Эн}$):

$$K_{Эн} = \frac{(ЛП(эмэ + н) - ЛП(эмэ + фр)) \pm (\delta(эмэ + н) + \delta(эмэ + фр))}{(ЛП(эмэ + фр) \pm \delta(эмэ + фр))} \cdot 100\% \quad (2),$$

где $K_{Эн}$ – коэффициент эффективности налоксона, $ЛП_{эмэ+н}$ – значение ЛП у животных, подвергнутых влиянию ЭМЭ и введению налоксона, $ЛП_{эмэ+фр}$ – значение ЛП у животных, подвергнутых влиянию ЭМЭ на фоне введения

физиологического раствора, $\delta_{эмэ+н}$ и $\delta_{эмэ+фр}$ – среднеквадратические отклонения измерений в соответствующих группах.

Отрицательные значения этого коэффициента расценивались как снижение им ноцицепции.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета специализированных программ «MedStat». Вычисляли среднее значение и ошибку среднего ($\bar{x} \pm S\bar{x}$). Сравнение средних величин различных показателей проводили по t-критерию Стьюдента, целесообразность применения которого была показана проверкой полученных данных на закон нормального распределения. Для оценки достоверности различий исследуемых показателей применялся однофакторный дисперсионный анализ. Оценивалась достоверность различий показателей термоноцицептивной чувствительности между группами (p_1), а также между исходными значениями и данными, полученными каждый день эксперимента в пределах групп (p_2). Различия между группами считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ЭМЭ вызывает трехфазные изменения ноцицепции у мышей. В течение первых-вторых суток эксперимента ЛП реакции избегания животных не изменяется (рис. 1).

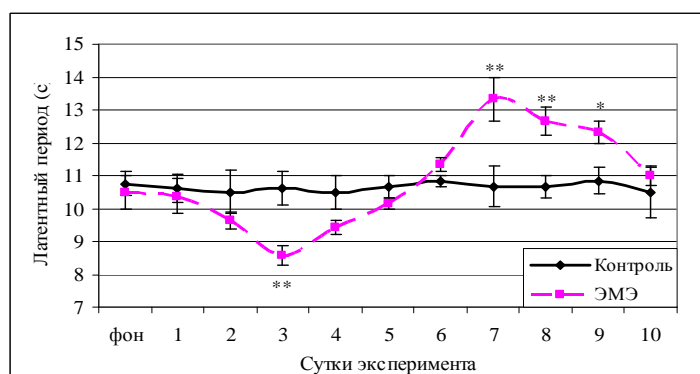


Рис. 1. Динамика ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) латентного периода (с) интактной группы мышей и животных, находившихся в условиях электромагнитного экранирования.

Примечание: * – различия статистически значимы между группами: * – ($p_1 < 0,05$), ** – ($p_1 < 0,01$).

На третьи сутки эксперимента у мышей регистрируется прогрессивное нарастание гипералгезии, о чем свидетельствует снижение КЭмэ до $-19,37 \pm 2,2\%$ ($p_2 < 0,001$). Вторая фаза изменений термоноцицептивной чувствительности при ЭМЭ заключается в развитии антиноцицептивного эффекта, который достигал максимума на седьмые-восьмые сутки эксперимента ($KЭмэ = 25,08 \pm 1,69\%$ ($p_2 < 0,001$)). В течение третьей стадии (девятые-десятые сутки) антиноцицептивный эффект ЭМЭ у мышей постепенно снижался, достигая исходного уровня данных.

Выявленные трехфазные изменения ноцицепции мышей в условиях ЭМЭ согласуются с данными, полученными в аналогичных экспериментах на наземных моллюсках. Однако следует отметить, что изменения ноцицепции при ЭМЭ у мышей не только развиваются более быстро, чем у беспозвоночных животных, но и гораздо более выражены: максимальное увеличение чувствительности моллюсков при термостимуляции (гипералгезия) отмечалось позже, гипоалгетический эффект был в 3,4 раза меньше, чем у мышей [13]. Это может быть связано с тем, что у позвоночных животных преобладают миелиновые нервные волокна, благодаря чему все реакции на действие внешних раздражителей развиваются намного быстрее, чем у беспозвоночных, у которых характерно преобладание немиелинизированных волокон с низкой скоростью передачи нервного импульса. Следовательно, изучение механизмов влияния электромагнитных факторов удобнее проводить на животных низших таксономических групп, так как все реакции растянуты во времени, что позволяет более детально изучить исследуемые эффекты.

Фазные изменения термоноцицептивной чувствительности обнаружены и другими авторами в экспериментах на мышах, которые пребывали в μ -боксе, ослабляющем переменное магнитное поле частотой 0-100 Гц в 125 раз, а постоянное – до 1 мТл [14].

Как показали проведенные исследования, в изменении ноцицепции при ЭМЭ важную роль играет опиоидная система.

Если введение физиологического раствора интактным мышам не вызывает изменений параметров ноцицепции, то инъекция налоксона приводила к разнонаправленным изменениям в различные дни исследования показателей ноцицепции мышей относительно животных, которым вводился физиологический раствор в эквивалентном объеме. Однако эти изменения во все сроки наблюдения были недостоверны.

В экспериментах на мышах, у которых были блокированы налоксоном опиоидные рецепторы, в условиях экранирования также выявлены фазные изменения ноцицепции. Отмечается усиление гипералгетического эффекта уже со вторых суток эксперимента. На четвертые сутки наблюдения зарегистрировано снижение КЭмэ+н более чем в два раза больше по сравнению с животными, которым вводился физиологический раствор (КЭмэ+фр = $-10,21 \pm 3,88\%$, КЭмэ+н = $-26,51 \pm 2,05\%$) (рис. 2, А).

Одной из причин первоначально развивающейся при действии ослабленного ЭМП гипералгезии может быть обнаруженное нами снижение активности опиоидной системы. Так, анализ динамики КЭн показал, что в первые-пятые сутки имело место снижение данного показателя до $-19,14 \pm 2,37\%$ ($p_2 < 0,001$), с чем может быть связано увеличение чувствительности моллюсков к термическому стимулу (рис. 2, Б).

Усиление гипералгезии сменялось снижением антиноцицептивного эффекта ЭМЭ – на шестые сутки налоксон снимал, а в последующие сутки несколько уменьшал этот эффект (на седьмые сутки на 80% ($p_1 < 0,01$)).

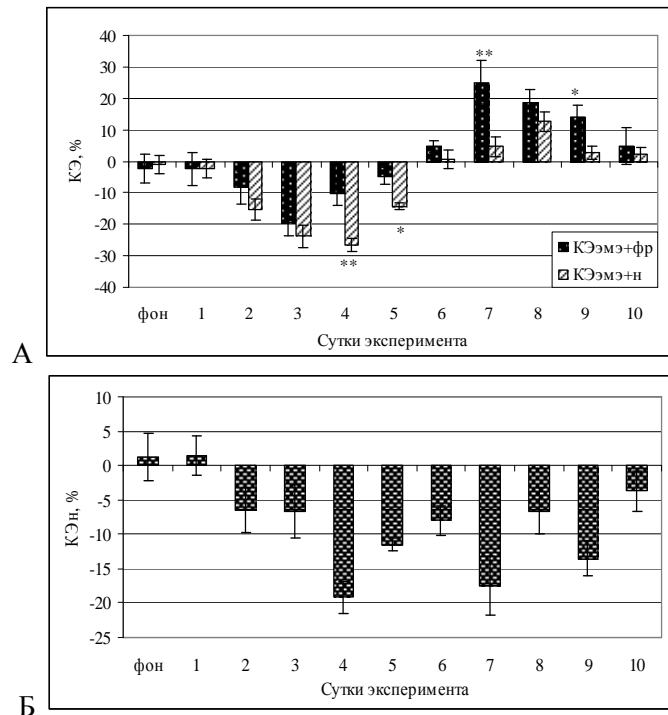


Рис. 2. Динамика ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) коэффициентов эффективности (%) электромагнитного экранирования (А) у мышей при ежедневном введении налоксона (КЭмэ+н) и физиологического раствора (КЭмэ+фр) и коэффициента эффективности (%) налоксона (КЭн) у мышей (Б).

Примечание: * – различия статистически значимы между группами: * – ($p_1 < 0,05$), ** – ($p_1 < 0,01$), *** – ($p_1 < 0,001$).

Таким образом, неселективный блокатор опиоидных рецепторов значительно модифицирует изменения ноцицепции мышей при ЭМЭ. Эта модификация заключается в усилении гипералгетического эффекта и снижении антиноцицептивного. Такие изменения ноцицепции при введении налоксона, по-видимому, обусловлены фазными изменениями активности опиоидной системы. На разных этапах действия электромагнитных факторов ее вклад в изменения ноцицепции неодинаков: I фаза – торможение ее активации, в силу чего прогрессирует гипералгезия, далее – возрастание активности (II фаза), результатом чего является полное нивелирование антиноцицептивного эффекта ЭМЭ налоксоном, III фаза – прогрессирующее уменьшение активности опиоидной системы, когда налоксон только редуцирует антиноцицептивный эффект, что, по-видимому, связано с развитием толерантности опиоидов к действию электромагнитных факторов.

Полученные результаты согласуются также с данными F.S. Prato et al. (2005) [14], которые обнаружили, что выраженность анальгетического эффекта экранирования на пятый сутки эксперимента тождественна таковой, вызванной морфином (5 мг/кг), и

эта анальгезия уменьшается, но не исчезает под влиянием налоксона. Таким образом, авторы обнаружили влияние налоксона только в один срок (пятые сутки) экранирования и убедились, что он частично опиоидобусловлен. Полученные нами результаты могут быть расценены как свидетельство фазных изменений активности опиоидной системы при длительном ЭМЭ. Полученные данные могут быть объяснены с точки зрения мелатониновой теории, согласно которой ЭМП снижают секрецию мелатонина.

Из литературных источников известно, что существует тесная взаимосвязь между опиоидной системой и мелатонином: мелатонин стимулирует синтез в различных структурах мозга β -эндорфина [15], а введение агонистов опиоидных рецепторов увеличивает уровень мелатонина в эпифизе крыс [16]. Но решающее значение в развитии мелатонининдуцированной анальгезии играет активация им опиоидных рецепторов [17].

При начальном угнетении секреции мелатонина электромагнитными факторами снижается активность опиоидной системы, т.к. уменьшается продукция β -эндорфина, чувствительность опиоидных рецепторов, результатом чего является развитие гипералгезии. Во II фазе, когда продукция мелатонина усиливается, активируются МТ1 и МТ2 рецепторы, а также опиоидная и другие антиноцицептивные системы, что и обуславливает развитие антиноцицептивного эффекта.

Таким образом, в механизмах действия ослабленного ЭМП важную роль играет опиоидная система, активность которой на разных этапах действия фактора изменяется фазно. Вероятно, в реализации данного эффекта участвуют и другие системы, обеспечивающие ноцицепцию. На ранних стадиях ведущую роль играет мелатонин, секреция которого под влиянием электромагнитных факторов подавляется. Изменение его секреции в разные фазы воздействия электромагнитных полей влечет за собой неодинаковую активацию опиоидных рецепторов [18]. В последующие сроки действия электромагнитных факторов секреция мелатонина возрастает, благодаря чему он включает опиоидную систему в развитие антиноцицептивного эффекта. Дальнейшие исследования позволят уточнить участие каждой из систем в обеспечении действия электромагнитных факторов низкой интенсивности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В условиях ЭМЭ активность опиоидной системы изменяется неодинаково.
2. Ослабление естественного ЭМП вызывает снижение опиоидной активности, в силу чего прогрессирует гипералгезия, далее ее активация, сменяющаяся прогрессирующим уменьшением активности опиоидной системы.

Список литературы

1. Темурьянц Н.А. Роль опиоидной системы в модуляции термонцицептивной чувствительности моллюсков при действии слабых электромагнитных факторов / Н.А. Темурьянц, А.С. Костюк // Нейрофизиология. – 2011. – Т. 43 (5). – С. 432–442.
2. Темурьянц Н.А. Электромагнитное излучение крайне высокой частоты, модифицирующее экранобусловленные изменения ноцицепции и активности опиоидной системы у наземных

- моллюсков / Н.А. Темурьянц, А.С. Костюк, К.Н. Туманянц // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2014. – №2. – С. 32-40.
3. Frey A.H. Electromagnetic field interactions with biological systems / A.H. Frey // *FASEB J.* – 1993. – Vol. 7, No. 2. – P. 272–281.
 4. Чуян Е.Н. Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Е.Н. Чуян, Э.Р. Джелдубаева // Монография, Симферополь: «ДИАЙПИ», 2006. – 508 с.
 5. Теппоне М.В. Крайне высокочастотная (КВЧ) - терапия в онкологии / М.В. Теппоне, Р.С. Авакяна // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2003. – № 1 (29). – С. 3–19.
 6. Кузьменко В.М. Роль мікрохвильової резонансної терапії в комплексному лікуванні хворих на церебральний атеросклероз / В.М. Кузьменко // Лікувальна справа. – 1998. – Т. 7. – С. 146–148.
 7. Usichenko T.I. Treatment of chronic pain with millimetre wave therapy (MWT) in patients with diffuse connective tissue diseases: a pilot case series study / T.I. Usichenko, H.F. Herget // *Eur. J. Pain.* – 2003. – Vol. 7. – P. 289–294.
 8. Asashima M. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster* / M. Asashima, K. Shimada, C.J. Pfeiffer // *Bioelectromagnetics.* – 1991. – Vol. 12, Is. 4. – P. 215–224.
 9. Light alters nociceptive effects of magnetic field shielding / A.M. Koziak, D. Desjardins, L.D. Keenlside [et al.] // *Bioelectromagnetics.* – 2006. – Vol. 27 (1). – P. 10–15.
 10. Василенко А.М. Корреляция болевой чувствительности и гуморального иммунного ответа у мышей при термораздражении / А.М. Василенко, О.Г. Яновский, О.В. Коптелов // Бюлл. exper. мед. – 1995. – Т. 4. – С. 405–408.
 11. Влияние крайне слабых переменных магнитных полей на регенерацию планарий и гравитационную реакцию растений / Н.А.Белова, А.М. Ермаков, А.В. Знобищева [и др.] // Биофизика. – 2010. – Т. 55, Вып. 4. – С. 704–709.
 12. Биоэффекты слабых переменных магнитных полей и биологически предвестники землетрясений / В.В. Леднев, Н.А. Белова, З.Е. Рождественская, Х.Г. Тирас // Геофизические процессы и биосфера. – 2003. – Т. 2, (1). – С. 3–11.
 13. Темурьянц Н.А. Участие мелатонина в изменении ноцицепции моллюсков и мышей при длительном электромагнитном экранировании / Н.А. Темурьянц, А.С. Костюк, К.Н. Туманянц // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова РАН. – 2013. – Т. 99 (11). – С. 1333–1342.
 14. Daily Repeated magnetic field shielding induce analgesia in CD-1 mice / F.S. Prato, J.A. Robertson, D. Desjardins, A.W. Thomas // *Bioelectromagnetics.* – 2005. – Vol. 26, Is. 2. – P. 109–117.
 15. Melatonin influences the release of endogenous opioid peptides in rat periaqueductal gray / C.X. Yu, G.C. Wu, S.F. Xu, C.H. Chen // *Sheng Li Xue Bao.* – 2000. – Vol. 52 (3). – P. 207–210.
 16. Chuchuen U. The stimulatory effect of mu- and delta-opioid receptors on bovine pinealocyte melatonin synthesis / U. Chuchuen, M. Ebadi, P. Govitrapong // *Journal of Pineal Research.* – 2004. – Vol. 37 (4). – P. 223–229.
 17. Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia / M.L. Lakin, C.H. Miller, M.L. Stott, W.D. Winters // *Life Sciences.* – 1981. – Vol. 29 (24). – P. 2543–2551.
 18. Melatonin: a hormone that modulates pain / M. Ambriz-Tututi, Hi Rocha-Gonzalez, S.L. Cruz, V. Granados-Soto // *Life Science.* – 2009. – Vol. 84 (15–16). – P. 489–498.

Костюк О.С. Участь опіоїдної системи у змінах ноцицепції мишей при електромагнітному екрануванні / О.С. Костюк // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 113-122.

В експериментах на мишах підтвержені дані про зміну активності опіоїдної системи, отримані раніше на моллюсках. Підтверджено, що активність опіоїдної системи на різних етапах дії електромагнітного фактора змінюється неоднаково: зниження її активності, в силу чого прогресує гіпералгезія, що має місце в початковий період перебування тварин в умовах екранування, далі її активація (II фаза), результатом чого є нівелювання антиноцицептивного ефекту електромагнітного екранування, III стадія – прогресуюче зменшення активності опіоїдної системи, в силу чого антиноцицептивний ефект поступово редукується.

Ключові слова: опіоїдна система, електромагнітне екранування, налоксон, ноцицепція, миші.

PARTICIPATION OPIOID SYSTEM IN CHANGES OF NOCICEPTION IN MICE UNDER ELECTROMAGNETIC SHIELDING

Kostyuk A.S.

Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: alexkostyuk@mail.ru

Introduction of naloxone like non-selective opioid receptor blocker in a dose of 5 mg/kg significantly modifies changes of nociception in mice under the influence of electromagnetic shielding (EMS). This modification is manifested in the increase of the hyperalgesia and decrease of the antinociceptive effect. Such changes nociception when administered naloxone caused by phase changes of the activity of opioid systems.

At different stages of the action of electromagnetic factors of opioid system contribution to the change in nociception varies: I phase – inhibition of its activation, by virtue of which progresses hyperalgesia, further – increase in activity (II phase), resulting in the antinociceptive effect under the influence of EMS complete leveling at introduction the naloxone, III phase – a progressive reduction of activity opioid system when naloxone only reduces the antinociceptive effect. That seems to be associated with the development of tolerance to opioids to electromagnetic factors.

Keywords: opioid system, electromagnetic shielding, naloxone, nociception, mice.

References

1. Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Role of opioid system in the modulation thermonociceptive sensitivity in snails under the action of weak electromagnetic factors, *Neurophysiology*, **43** (5), 432 (2011).
2. Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Tumanyants K.N., The electromagnetic radiation of ultra-high frequency is modifies of shielding-induced changes of nociception and activity of opioid system in snails, *Biomedical electronics*, **2**, 32 (2014).
3. Frey A.H., Electromagnetic field interactions with biological systems, *FASEB J.*, **7** (2), 272 (1993).
4. Chuyan E.N., Dzheldubaeva E.R., Mechanisms of the antinociceptive action of low-intensity millimeter waves (Simferopol, Diapi, 2006).
5. Teppone M.V., Avakian R.S., Extremely high frequency (EHF) therapy in oncology, *Millimeter waves in biology and medicine*, **1** (29), 3 (2003).
6. Kuz'menko V.M., Role mikrohvilovoi rezonansnoi terapii in Integrated likuvanni ailments on cerebral arteriosclerosis, *Likuvalna right*, **7**, 146 (1998).
7. Usichenko T.I., Herget H.F., Treatment of chronic pain with millimetre wave therapy (MWT) in patients with diffuse connective tissue diseases: a pilot case series study, *Eur. J. Pain*, **7**, 289 (2003).
8. Asashima M., Shimada K., Pfeiffer C.J., Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster*, *Bioelectromagnetics*, **12** (4), 215 (1991).
9. Koziak A.M., Desjardins D., Keenlside L.D., Thomas A.W., Prato F.S., Light alters nociceptive effects of magnetic field shielding, *Bioelectromagnetics*, **27** (1), 10 (2006).
10. Vasilenko A.M., Yanovsky O.G., Koptelov O.V., Correlation of pain sensitivity and humoral immune response in mice at termorazdrozhenii. *Bull. experts. medic.*, **4**, 405 (1995).
11. Lednyov V.V., Belov H.A., Christmas Z.E., Tiras H.G., Bioeffects of weak alternating magnetic fields and biological precursors of earthquakes, *Geofizicheskiye protsessy i biosfera*, **2** (1), 3 (2003).
12. Belova N.A., Ermakov A.M., Znobischeva A.V., Srebnitsky L.K., Lednyov V.V., Influence of extremely weak variables magnetic fields on regeneration in planaria and gravity reaction in plants, *Biofizika*, **55** (4), 704 (2010).

13. Temuryants N.A., Kostyuk A.S., Tumanyants K.N., Involvement of melatonin in changing nociception in snails and mice with prolonged electromagnetic shielding, *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova RAN*, **99** (11), 1333 (2013).
14. Prato F.S., Robertson J.A., Desjardins D., Thomas A.W., Daily Repeated magnetic field shielding induce analgesia in CD-1 mice, *Bioelectromagnetics*, **26** (2), 109 (2005).
15. Yu C.X., Wu G.C., Xu S.F., Chen C.H., Melatonin influences the release of endogenous opioid peptides in rat periaqueductal gray, *Sheng Li Xue Bao*, **52** (3), 207 (2000).
16. Chuchuen U., Ebadi M., Govitrapong P., The stimulatory effect of mu- and delta-opioid receptors on bovine pinealocyte melatonin synthesis, *Journal of Pineal Research*, **37** (4), 223 (2004).
17. Lakin M.L., Miller C.H., Stott M.L., Winters W.D., Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia, *Life Sciences*, **29** (24), 2543 (1981).
18. Ambriz-Tututi M., Rocha-Gonzalez Hi, Cruz S.L., Granados-Soto V., Melatonin: a hormone that modulates pain, *Life Sciences*, **84** (15–16), 489 (2009).

Поступила в редакцию 29.04.2014 г.

УДК 612.821.4:613.84:612.014.46

ВОЗДЕЙСТВИЕ АЛКОГОЛЯ И КУРЕНИЯ НА ТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КАДМИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Островская С.С.

*ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины», Днепропетровск, Украина
E-mail: ostr_2011@mail.ru*

В статье раскрывается спектр проблем, связанных с влиянием кадмия и алкоголя, кадмия и курения на организм. Существующие факты подчеркивают сильное негативное влияние их сочетанного воздействия на заболеваемость, инвалидность, повышающие преждевременную смертность населения во всем мире. Особенно опасным является высокий уровень употребления алкоголя и злоупотребления курением женщинами детородного возраста. Эти аспекты освещенной в статье проблемы требуют усиленного внимания и профилактических мер, направленных на снижение уровня употребления алкоголя и табакокурения в связи с накоплением кадмия, что является опасным для здоровья.

Ключевые слова: алкоголь, курение, кадмий, сочетанное воздействие

Хорошо известно, что токсические эффекты ксенобиотиков могут быть усилены действием различных факторов, например, синергический эффект наблюдается при сочетанном воздействии кадмия и свинца [1, 2]. Известно также, что даже низкие дозы радиации усиливают повреждающее действие различных химических веществ [3], в том числе тяжелых металлов [2, 4].

Поскольку одновременное воздействие двух или более ксенобиотиков постоянно имеет место в окружающей среде и/или в условиях профессиональной деятельности, исследование взаимодействий между ними является важной проблемой в токсикологии. Таким примером может быть взаимодействие между кадмием (Cd) и алкоголем, кадмием и курением.

Воздействие Cd в современных условиях часто довольно высоко [5–10], а потребление алкоголя продолжает расти во всем мире [11–14]. В исследовании [15] показано, что распространенность алкогольной зависимости по данным социологического обследования в Женеве с 1996 по 2006 годы особенно увеличилась среди женщин (1996 г: 6%; 2006 г: 14%; $p=0,001$; среди мужчин – 1996 г: 18%, 2006 г: 19%). По данным исследований в США [16] бывшие пьющие и регулярные сильно пьющие имеют более высокие риски смертности как среди мужчин, так и среди женщин. Кроме того, алкогольная зависимость тесно связана с табакокурением.

Cd является неотъемлемой составной частью табака из-за склонности видов *Nicotiana* концентрировать Cd независимо от его содержания в почве. Наличие Cd в табаке колеблется в широких пределах, но типичный диапазон 1-2 мкг / г сухого веса, что эквивалентно 0,5-1 мкг на 1 сигарету. Оксид Cd, образующийся при сжигании

сигарет, обладает высокой биодоступностью. Примерно 10% вдыхаемого оксида Cd осаждается в легочной ткани, а другие 30-40% всасываются в системный кровоток курильщиков, у которых в 4-5 раз более высокие уровни Cd в крови и в 2-3 раза большее количество Cd в почках, чем у некурящих субъектов [14, 17]. Известно, что 70-80 пьющих субъектов являются активными курильщиками, поэтому те лица, которые подвергаются воздействию Cd, могут быть одновременно и теми, кто злоупотребляет алкоголем и курением. Эта проблема в современном мире особенно актуальна для женщин, поскольку скорость поглощения и накопления в тканях Cd у женщин выше, чем у мужчин. Серьезную озабоченность вызывает также тот факт, что среди курящих увеличивается количество людей молодого возраста [17-19]. Большое количество публикаций содержат данные о том, как действуют алкоголь и/или курение на организм [18, 20, 21]. Активно исследуются многие аспекты влияния этих факторов на метаболизм Cd. Так, результаты краткосрочного и долгосрочного воздействия алкоголя свидетельствуют об усилении токсических свойств Cd у крыс, получавших одновременное воздействие Cd и алкоголя [22]. Проведено исследование [23], в котором оценен эффект одновременного долгосрочного воздействия Cd и алкоголя на обмен железа (Fe) у самцов крыс линии Вистар. Животные получали питьевую воду, содержащую 50 мг Cd / л и 10% (вес / объем) алкоголь в течение 12 недель. Был сделан вывод о том, что изменения в статусе Fe у крыс, подвергающихся сочетанному воздействию Cd и алкоголя приводит к уменьшению биодоступности Fe и оказывает модифицирующее действие алкоголя на метаболизм Cd, увеличивая накопление Cd в организме, что делает организм более восприимчивым к истощению Fe. Алкоголики, таким образом, подвергаются повышенному риску нарушений обмена Fe.

Ряд исследований [11] указывают также на то, что этанол повышает нефротоксичность Cd у крыс, что указывает на более высокий риск повреждения почек у алкоголиков, которые подвергаются одновременному воздействию Cd.

Существует связь между воздействием Cd на матерей и неблагоприятными репродуктивными исходами, которые могут являться последствием курения, когда Cd поступает в организм курящих беременных женщин, поскольку сигаретный дым содержит более 3000 веществ, в том числе таких химических элементов как Cd, свинец, никель, кобальт и т. д.. Преждевременные роды и кесарево сечение были примерно в 4 раза чаще у женщин с более высоким содержанием Cd в моче ($Cd \geq 2$ мкг / г креатинина), чем у тех, которые имели более низкое содержание Cd в моче (< 2 мкг / г креатинина). Рост и вес младенцев у женщин с высоким уровнем мочевого Cd были значительно ниже, чем у детей, матери которых имели низкий уровень мочевого Cd. [24, 25].

Наблюдается также положительная корреляция между содержанием Cd в моче и его концентрации в грудном молоке курящих матерей. Эти данные были подтверждены в исследовании, которое включало анализ Cd в моче и в образцах молока у женщин через 5-8 дней после родов [8, 24]. Анализ образцов грудного молока на содержание Ca, цинка, меди, магния, натрия, калия и фосфора также показали обратную корреляцию между этими микроэлементами и Cd. Указывается,

в частности, что более высокие уровни Cd соответствуют более низким уровням Са в грудном молоке.

Дальнейшие исследования на крысах показали, что воздействие Cd в начале жизни новорожденных крысят приводит к раннему началу их полового созревания, вызывает повышенную скелетную деминерализацию, приводя к увеличению хрупкости костей и риску переломов [26, 27]. Показано также [28], что в пренатальном онтогенезе токсический эффект Cd проявляется снижением массы тела и роста плода, постнатально – в недоразвитии крысят по всем изученным морфологическим и функциональным показателям и увеличении числа мертворожденного потомства.

Воздействие Cd как основного компонента сигаретного дыма во время беременности способно индуцировать морфофункциональные изменения в сердечно-сосудистой системе у взрослого потомства [29]. Морфология и реактивность сосудов сердца были оценены во взрослом потомстве крыс, подвергшихся воздействию Cd во время беременности. Эхокардиографические исследования показали наличие измененного сердца и гипертрофию левого желудочка. Наблюдалось снижение эндотелий-зависимой реактивности в изолированных кольцах аорты взрослого потомства, в то время как эндотелий-независимая реактивность оставалась неизменной. Эти эффекты были связаны с увеличением экспрессии гемоксигеназы 1 (НО-1) в аорте взрослого потомства. Выражение НО-1 было выше у самок, чем у самцов, что указывало на связанную с полом зависимость экспрессии сосудистой молекулы клеточной адгезии 1 (VCAM-1), которая была ниже у взрослых самок. Все эти долгосрочные последствия наблюдались наряду с обычной массой тела при рождении и отсутствием заметного повышения Cd в тканях плода и взрослого потомства. В плацентарных тканях, однако, Cd был обнаружен и его содержание коррелировало с повышенной экспрессией NF- κ B - фактора транскрипции, чувствительного к воспалению и окислительному стрессу, что свидетельствует о плацентарном механизме воздействия на плод Cd, который влиял на гены, связанные с развитием сердечно-сосудистой системы [30]. Таким образом, Cd во время беременности, поступая из организма матери и накапливаясь в плаценте, перепрограммирует развитие сердечно-сосудистой системы плода, что, в свою очередь, может способствовать увеличению риска сердечно-сосудистых заболеваний у потомства во взрослом возрасте.

В исследовании [31] обнаружено, что риск рака молочной железы увеличивается у женщин, которые были беременны и которые курили в течение 5 лет. Риск резко возрос также у нерожавших женщин, которые ежедневно выкуривали ≥ 20 сигарет и курили в течение ≥ 20 лет. Эти результаты подчеркивают необходимость проведения профилактики курения в раннем подростковом возрасте для снижения экспозиции Cd.

В поддержку потенциальной роли воздействия Cd в развитии рака молочной железы были исследованы эстрогенные эффекты Cd в тканях молочной железы крыс [26]. Показано, что функционально Cd действует подобно стероидному гормону в клетках рака молочной железы и обладает мощной эстрогеноподобной активностью в естественных условиях. Воздействие Cd увеличивает сырой вес матки, что сопровождается пролиферацией эндометрия, индукцией рецепторов

прогестерона (PgR) и компонента C₃ комплемента. В молочной железе Cd способствует увеличению формирования боковых ветвей в альвеолярных почках и индукции казеина. Внутриутробное воздействие металла также имитировало эффекты эстрогенов.

Cd, как известно, оказывает гонадотоксическое сперматотоксическое воздействие, негативно влияя также и на мужскую репродуктивную функцию [7, 32, 33]. Учитывая приведенные выше данные, можно предполагать усугубление этих эффектов курением и потреблением алкоголя. Так, в семенниках взрослых крыс-самцов, подвергшихся воздействию ацетата Cd или ацетата Pb при дозе 0,025 мг на кг массы тела внутрибрюшинно в течение 15 дней, оба металла вызвали увеличение активных форм кислорода (АФК), увеличение в яичках малонового диальдегида (МДА) и уменьшение антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатион-S-трансферазы в митохондриальной и / или пост-митохондриальной фракциях [34–36]. Деятельность стероидогенных ферментов 3 β и 17 β - гидроксистероиддегидрогеназы также существенно сокращалась, что в сумме приводило к изменению продукции тестостерона, значительному уменьшению размеров яичек и количества сперматозоидов, их подвижности и жизнеспособности. При этом воздействие Cd показало более токсичный эффект, чем воздействие Pb [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, бремя болезней, связанных с алкоголем и курением, неизмеримо возрастает, когда эти факторы рассматриваются как прямые усилители токсического воздействия тяжелых металлов, в том числе Cd, на организм. Вскрывается целый спектр проблем, связанных, прежде всего, с пренатальным воздействием Cd и алкоголя, Cd и курения. Существующие факты, далеко не полная часть которых приведена в данном обзоре литературы, подчеркивают сильное негативное влияние, которое оказывает их сочетанное воздействие на заболеваемость, инвалидность, вызывая преждевременную смертность населения во всем мире. Особенно опасным является высокий уровень потребления алкоголя и злоупотребление курением женщинами детородного возраста. Эти аспекты, освещенной в статье проблемы, требуют усиленного внимания и профилактических мер, направленных на снижение уровня потребления алкоголя и табакокурения в связи с накоплением в организме кадмия, опасным для здоровья.

Список литературы

1. Гливенко А.В. Функциональная значимость свинца и кадмия для сердечной деятельности студентов медицинского университета / А.В. Гливенко // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Серия : Биология, химия. – 2005. – № 3. – С. 9–12.
2. Островська С.С. Морфометричне дослідження судин міокарда при дії іонізуючого випромінювання та солей важких металів / С.С. Островська // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч.1 (16). – С. 175–178.
3. Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and dose of gamma-irradiation / A. Moskalev, M. Shaposhnikov, A. Snezhkina [et al.] // PLoS. One. –2014. – Vol. 9, № 1. – P. 64–70.

4. Багатофакторний аналіз комбінованої дії йонізуючого випромінювання та іонів кадмію на організм / В.М. Войціцький, С.В. Хижняк, О.О. Кисіль [та ін] // Укр. радіол. журнал. – 2005. – № 4. – С. 575–581.
5. Cadmium exposure and neurodevelopmental outcomes in U.S. children / T. Ciesielski, J. Weuve, D.C. Bellinger [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* – 2012. – Vol. 120, № 5. – P. 758-763.
6. Cadmium, environmental exposure and health outcomes / S. Satarug, S.H. Garrett, M.A. Sens [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* – 2010. – Vol. 118, № 2. – P.182–190.
7. Effect of lead and cadmium co-exposure on testicular steroid metabolism and antioxidant system of adult male rats / C. Pandya, P. Pillai, L. P. Nampoothiri [et al.] // *Andrologia.* – 2012. – Vol. 44, № 1. – P. 813-822.
8. Guney M. Heavy metals in toys and low-cost jewelry: critical review of U.S. and Canadian legislations and recommendations for testing / M. Guney, G.J. Zagury // *Environ. Sci. Technol.* – 2012, № 12. – P.4265–4274.
9. Hartwig A. Cadmium and cancer / A. Hartwig // *Met. Ions. Life. Sci.* – 2013. – № 11. – P.491-507.
10. Smoking cessation in alcohol-dependent patients: results from a randomized, controlled trial pancreatic cancer: alcohol and nicotine as risk factors / R. Pfützner, N. Wodarz, F. Weber [et al.] // *Alcohol and Alcoholism.* – 2011. – Vol. 46, № 1. – P. 7–16.
11. Brzóska M.M. liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol / M.M. Brzóska, J. Moniuszko-Jakoniuk, B. Pilat-Marcinkiewicz // *Alcohol and Alcoholism.* – 2003. – Vol. 38, № 1. – P. 2-10.
12. Effect of short-term ethanol administration on cadmium retention and bioelement metabolism in rats continuously exposed to cadmium / M.M. Brzóska, J. Moniuszko-Jakoniuk, M. Jurczuk [et al.] // *Alcohol and Alcoholism.* – 2000. – Vol. 35, № 5. – P. 439–445.
13. Effect of lead and ethanol, consumed by pregnant rats, on behavior of their grown offsprings / R. Brus, R. Szkilnik, P. Nowak [et al.] // *Pharmacol. Review. Communicat.* – 1999. – № 10. – P.175–186.
14. Impact of different reference period definitions in the quantification of alcohol consumption: results from a nationwide steps survey in Mozambique / J. Pires, P. Padrão, A. Damasceno [et al.] // *Alcohol and Alcoholism.* – 2012. – Vol. 47, № 3. – P. 328–333.
15. Rostron B. Alcohol consumption and mortality risks in the USA / B. Rostron // *Alcohol and Alcoholism.* – 2012. – Vol. 47, № 3. – P. 334–339.
16. Etter J.F. Paradoxical Changes in Alcohol Consumption and CAGE Ratings Between 1996 and 2006 in the General Population of Geneva / J.F. Etter, G. Gmel // *Alcohol and Alcoholism.* – 2011. – Vol. 46, № 2. – P. 128-132.
17. Patterns of alcohol consumption in the Thai population: results of the national household survey of 2007 / S. Assanangkornchai, N. Sam-Angsri, S. Rerngpongpan [et al.] // *Alcohol and Alcoholism.* – 2010. – Vol. 45, № 3. – P.278–285.
18. Fuhr D.C. What is alcohol per capita consumption of adults telling us about drinking and smoking among adolescents? A population-based study across 68 countries / D.C. Fuhr, G. Gmel // *Alcohol and Alcoholism.* – 2011. – Vol.46, № 1. – P.88-92.
19. Occupational risk factors for renal cell carcinoma: agent-specific results from a case-control study in Germany / B. Pesch, J. Haerting, U. Ranft [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* – 2000. – № 29. – P.1014–1024.
20. Durazzo T. C. The neurobiological and neurocognitive consequences of chronic cigarette smoking in alcohol use disorders / T. C. Durazzo, S. Gazdzinski, D. J. Meyerh // *Alcohol and Alcoholism.* – 2007. – Vol. 42, № 3. – P.174-185.
21. Testino G. Alcohol cardiovascular disease and cancer / G. Testino, V. Patussi, E. Scafato // *Alcohol and Alcoholism.* – 2013. – Vol. 48, № 5. – P. 627–628.
22. Cadmium turnover and changes of zinc and copper body status of rats continuously exposed to cadmium and ethanol / M.M. Brozoska, J. Moniuszko-Jakoniuk, M. Jurczuk [et al.] // *Alcohol and Alcoholism.* – 2002. – Vol. 37, № 3. – P. 213-222.
23. Iron body status of rats chronically exposed to cadmium and ethanol / M. Jurczuk, M.M. Brzóska, J. Rogalska [et al.] // *Alcohol and Alcoholism.* – 2003. – Vol. 38, № 3. – P. 202-207.
24. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy and breast milk / M. Nishijo, H. Nakagawa, R. Honda [et al.] // *Occup. Environ. Med.* – 2002. – Vol. 5, № 9. – P. 394–397.
25. Satarug S. Adverse health effects of exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke / S. Satarug, M.R. Moore // *Environ. Health. Perspect.* – 2004. – Vol. 112, № 10. – P. 1099–1103.
26. Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland / M.D. Johnson, N. Kenney, A. Stoica [et al.] // *Nat. Med.* – 2003. – № 9. – P. 1081–1084.

27. Urinary calcium as a biomarker of renal dysfunction in a general population exposed to cadmium / X. Wu, T. Jin, Z. Wang [et al.] // *J. Occup. Environ. Med.* – 2001. – Vol. 43, № 4. – P. 898–904.
28. The separate and combined effects of calcium pantothenate deficiency and cadmium intoxication on rat reproductive function / N. V. Tyshko, K. E. Seliaskin, E. A. Melnik [et al.] // *Vopr. Hitan.* – 2012. – Vol. 81, № 1. – P. 33–43.
29. Maternal exposure to cadmium during gestation perturbs the vascular system of the adult rat offspring / A.M. Ronko, M. Montenegro, P. Castillo [et al.] // *Pharmacol.* – 2011. – Vol. 251, № 2. – P. 137–145.
30. Киреев Р.А. Влияние ионов кадмия на свободорадикальные процессы и активность Na⁺, K⁺ АТФ-азы в тканях самок крыс / Р.А. Киреев // *Токсикол. вестник.* – 2005. – № 4. – С. 12–15.
31. Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer / P.R. Band, N.D. Le, R. Fang [et al.] // *Lancet.* – 2002, № 360. – P.1044–1049.
32. Biochemical and reproductive effects of gestational-lactational exposure to lead and cadmium with respect to testicular steroidogenesis, antioxidant system, endogenous sex steroid and cauda-epidimal functions / P. Pillai, C. Pandya, N. Bhatt [et al.] // *Andrologia.* – 2012. – Vol. 44, № 2. – P. 92–101.
33. Sadik N.A. Effects of diallyl sulfide and zinc on testicular steroidogenesis in cadmium-treated male rats / N.A. Sadik // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2008. – Vol. 22, № 5. – P. 345–353.
34. Губина О.А. Биологические эффекты кадмия при хроническом поступлении в организм крыс с питьевой водой / О.А. Губина // *Токсикол. вестник.* – 2007. – № 4. – С. 23–26.
35. Добровольский Л.А. Современные представления о влиянии низких уровней тяжелых металлов на иммунную и другие системы: (обзор иностр. лит.) / Л.А. Добровольский, И.Г. Белашова, Е.Л. Радванская // *Довкілля та здоров'я.* – 2005. – № 2. – С. 73–78.
36. Мельничук Д.О. Вплив різних умов антиоксидантного захисту на кумуляцію кадмію та біохімічну характеристику крові білих щурів / Д.О. Мельничук, Н.М. Мельникова, Є.А. Деркач // *Современные проблемы токсикологии.* – 2004. – № 4. – С. 9–11.

Островська С.С. Вплив алкоголю і паління на токсичні ефекти кадмію (огляд літератури) / С.С. Островська // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 123–131.

В статті розкривається спектр проблем, зв'язаних з впливом кадмію і алкоголю, кадмію і паління на організм. Існуючі факти підкреслюють сильний негативний вплив їхнього сполученого впливу на захворюваність, інвалідність, що підвищує передчасну смертність населення в усій світі. Особливо небезпечним є високий рівень споживання алкоголю і зловживання палінням жінками дітородного віку. Ці аспекти освітленої в статті проблеми вимагають посиленої уваги і профілактичних мір, спрямованих на зниження рівня споживання алкоголю і тютюнопаління в зв'язку з накопиченням кадмію, що є небезпечним для здоров'я.

Ключові слова: алкоголь, паління, кадмій, сполучений вплив.

IMPACT OF ALCOHOL AND SMOKING ON TOXIC PROPERTIES OF CADMIUM (LITERATURE SURVEY)

Ostrovskaya S.S.

*Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Public Health of Ukraine, Dnipropetrovsk, Ukraine
E-mail: ostr_2011@mail.ru*

Considering that simultaneous impact of two or more xenobiotics constantly takes place in the surrounding environment and/or in conditions of professional activity, investigation of interaction between them is an important problem of toxicology. An example of this is interaction of cadmium (Cd) and alcohol. Impact of Cd in modern conditions is often highly enough, and alcohol consumption continues to grow all over the world. Besides,

alcohol dependency is closely linked with tobacco-smoking, and Cd is an integral component of tobacco content. Cd oxide, being formed in cigarette ashing has a bio-accessibility. It is known that 70-80% of drinkers are active smokers, that is why those persons that are exposed to Cd impact misuse alcohol and smoking simultaneously. In the up-today world this problem is especially relevant to women, as the rate of Cd consumption and accumulation in tissues of women is higher than in men. The fact that number of young people indulged to smoking grows, causes a great concern.

In literature survey there are presented data on the impact of alcohol and smoking on the Cd metabolism.

There exists link between interaction of Cd on mothers and unfavorable reproductive outcomes, which may be consequences of smoking, when Cd enters into the organism of pregnant women indulged to smoking. Premature labor and cesarean section occurred approximately by 4 times more often in women with a high content of Cd in urine ($Cd \geq 2$ mkg / g of creatinine), than in those with lower content of Cd in urine (<2 mkg / g of creatinine). Height and weight of infants in women with a high level of Cd in urine were significantly lower, than in infants of women with a low level of Cd in urine. A positive correlation between content of Cd in urine and its concentration in the breast milk of mother-smokers is observed. It was shown that during pregnancy impact of Cd as a main component of cigarette smoke may induce morphofunctional changes in the cardio-vascular system of adult offspring. During pregnancy Cd entering from mother's organism and accumulating in the placenta, re-programs development of fetus's cardio-vascular system, this, in its turn may contribute to development of risk of cardio-vascular diseases in offspring in adulthood. As it is known, Cd causes gonadotoxic and spermatotoxic impact, negatively influencing male reproductive function as well. Taking into account data mentioned above, one may presuppose aggravation of these effects by smoking and drinking.

So, disease burden, connected with alcohol abuse and smoking measurelessly grows, when these factors are considered as direct intensifiers of a toxic effect of heavy metals on the organism, Cd including. The whole spectrum of problems linked, first of all, with prenatal impact of Cd and alcohol, Cd and smoking is elucidated. Existing facts, presented in this literature review, far from being comprehensive, underline a strong negative impact, which is caused on disability, disease incidence and lethality all over the world due to their combined effect. A high level of alcohol consumption and smoking misuse by women of reproductive age is especially dangerous. These aspects, covered in the literature review, require special attention and preventive measures directed at decrease of alcohol and smoking misuse.

Keywords: cadmium, smoking, alcohol, combined action.

References

1. Hlyvenko A.V., Functional significance of plumbum and cadmium for cardiac activity of medical university students, *Scientific notes of Tavrich. Nat. univ. named after V.I. Vernadsky*, **3**, 9 (2005).
2. Ostrovska S.S., Morphometric investigation of myocardium vessels under the impact of ionizing irradiation and salts of heavy metals, *Tavrich. med.-biol. vestnik*. **16** (1), 175 (2013).
3. Moskalev A., Shaposhnikov M., Snezhkina A., Mining gene expression data for pollutants (dioxin, toluene, formaldehyde) and dose of gamma-irradiation, *PLoS. One*, **9** (1), 64 (2014).

4. Voitsitsky V.M., Khyzhnyak C.V., Kysil O.O., Multi-factor analysis of a combined action of ionizing irradiation and cadmium ions on the organism, *Ukr. Radiol. J.*, **4**, 575 (2005)
5. Ciesielski T., Weuve J., Bellinger D.C., Cadmium exposure and neurodevelopmental outcomes in U.S. children, *Environ. Health. Perspect.*, **120** (5), 758 (2012).
6. Satarug S., Garrett S.H., Sens M.A., Cadmium, environmental exposure and health outcomes, *Environ. Health. Perspect.*, **118** (2), 182 (2010).
7. Pandya C., Pillai P., Nampoothiri L.P., Effect of lead and cadmium co-exposure on testicular steroid metabolism and antioxidant system of adult male rats, *Andrologia*, **44** (1), 813 (2012).
8. Guney M., Zagury G.J., Heavy metals in toys and low-cost jewelry: critical review of U.S. and Canadian legislations and recommendations for testing, *Environ. Sci. Technol.*, **12**, 4265 (2012).
9. Hartwig A., Cadmium and cancer, *Met. Ions. Life. Sci.*, **11**, 491 (2013).
10. Pfützner R., Wodarz N., Weber F., Smoking cessation in alcohol-dependent patients: results from a randomized, controlled trial pancreatic cancer: alcohol and nicotine as risk factors, *Alcohol and Alcoholism*, **46** (1), 7 (2011).
11. Brzóška M.M., Moniuszko-Jakoniuk J., Pilat-Marcinkiewicz B., liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol, *Alcohol and Alcoholism*. **38** (1), 2 (2003).
12. Brzóška M.M., Moniuszko-Jakoniuk J., Jurczuk M., Effect of short-term ethanol administration on cadmium retention and bioelement metabolism in rats continuously exposed to cadmium, *Alcohol and Alcoholism*. **35** (5), 439 (2000).
13. Brus R., Szkilnik R., Nowak P., Effect of lead and ethanol, consumed by pregnant rats, on behavior of their grown offsprings, *Pharmacol. Review. Communicat.*, **10**, 175 (1999).
14. Pires J., Padrão P., Damasceno A., Impact of different reference period definitions in the quantification of alcohol consumption: results from a nationwide steps survey in Mozambique, *Alcohol and Alcoholism*, **47** (3), 328 (2012).
15. Rostron B., Alcohol consumption and mortality risks in the USA, *Alcohol and Alcoholism*. **47** (3), 334 (2012).
16. Etter J.F., Gmel G., Paradoxical Changes in Alcohol Consumption and CAGE Ratings Between 1996 and 2006 in the General Population of Geneva, *Alcohol and Alcoholism*. **46** (2), 128 (2011).
17. Assanangkornchai S., Sam-Angsri N., Rerngpongpan S., Patterns of alcohol consumption in the Thai population: results of the national household survey of 2007, *Alcohol and Alcoholism*, **45** (3), 278 (2010).
18. Fuhr D.C., Gmel G., Fuhr D.C., What is alcohol per capita consumption of adults telling us about drinking and smoking among adolescents? A population-based study across 68 countries, *Alcohol and Alcoholism*, **46** (1), 88 (2011).
19. Pesch B., Haerting J., Ranft U., Occupational risk factors for renal cell carcinoma: agent-specific results from a case-control study in Germany, *Int. J. Epidemiol.*, **29**, 1014 (2000).
20. Durazzo T.C., Gazdzinski S., Meyerh D.J. The neurobiological and neurocognitive consequences of chronic cigarette smoking in alcohol use disorders, *Alcohol and Alcoholism*, **42** (3), 174 (2007).
21. Testino G., Patussi V., Scafato E., Alcohol cardiovascular disease and cancer, *Alcohol and Alcoholism*, **48** (5), 627 (2013).
22. Brozoska M., Moniuszko-Jakoniuk J., Jurczuk M., Cadmium turnover and changes of zinc and copper body status of rats continuously exposed to cadmium and ethanol, *Alcohol and Alcoholism*, **37** (3), 213 (2002).
23. Jurczuk M., Brzóška M. M., Rogalska J. Iron body status of rats chronically exposed to cadmium and ethanol, *Alcohol and Alcoholism*, **38** (3), 202 (2003).
24. Nishijo M., Nakagawa H., Honda R., Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy and breast milk, *Occup. Environ. Med.*, **5** (9), 394 (2002).
25. Satarug S., Moore M.R., Adverse health effects of exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke, *Environ. Health. Perspect.*, **112** (10), 1099 (2004).
26. Johnson M.D., Kenney N., Stoica A., Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland, *Nat. Med.*, **9**, 1081 (2003).
27. Wu X., Jin T., Wang Z., Urinary calcium as a biomarker of renal dysfunction in a general population exposed to cadmium, *J. Occup. Environ. Med.*, **43** (4), 898 (2001).
28. Tyshko N.V., Seliaskin K.E., Melnik E.A., The separate and combined effects of calcium pantothenate deficiency and cadmium intoxication on rat reproductive function, *Vopr. Hitan.* **81** (1), 33 (2012).

29. Ronko A.M, Montenegro M., Castillo P., Maternal exposure to cadmium during gestation perturbs the vascular system of the adult rat offspring, *Pharmacol.*, **251** (2), 137 (2011).
30. Kireyev R. A., Impact of cadmium ions on free-radical processes and activity of Na⁺, K⁺ ATP-ase in tissues of female rats, *Toksikol. Vestnik*, **4**, 12 (2005).
31. Band P.R., Le N. D., Fang R., Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer, *Lancet*, **360**, 1044 (2002).
32. Pillai P., Pandya C., Bhatt N., Biochemical and reproductive effects of gestational-lactational exposure to lead and cadmium with respect to testicular steroidogenesis, antioxidant system, endogenous sex steroid and cauda-epidimal functions, *Andrologia*, **44** (2), 92 (2012).
33. Sadik N.A., Effects of diallyl sulfide and zinc on testicular steroidogenesis in cadmium-treated male rats, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **22** (5), 345 (2008).
34. Hubina O. A., Biologic effects of cadmium in chronic entry with drinking water into rats' organism, *Toksikol. Vestnik*, **4**, 23 (2007).
35. Dobrovolsky L.A., Belashova I.H., Radvanskaya Y.L., Modern views on the impact of low levels of heavy metals on the immune and other systems: (survey of foreign literature), *Dovkillya ta zdorov'ya*, **2**, 73 (2005).
36. Melnychuk D.M., Melnykova O.N., Derkach Ye.A., Impact of different conditions of antioxidant defense on cumulation of cadmium and biochemical characteristics of blood of white rats, *Sovremennye problem toksikologii*, **4**, 9 (2004).

Поступила в редакцию 11.04.2014 г.

УДК 612.621.31-055.2:796.015.6

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КОРТИЗОЛА В ОРГАНИЗМЕ МУЖЧИН РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА И УРОВНЯ ТРЕНИРОВАННОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

Погодина С.В., Козлова С.Н., Лисконог Л.В., Юфреве В.С.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: yuvser@live.ru*

В статье обсуждаются особенности изменения содержания кортизола в сыворотке крови у мужчин различного возраста и уровня тренированности при выполнении физической работы. Показано, что у всех обследованных нетренированных мужчин при физической работе выявлено снижение содержания кортизола в сыворотке крови. У тренированных мужчин первого зрелого возраста, представителей циклических и силовых видов спорта изменений адренкортикальной активности при физической работе не выявлено. У мужчин представителей силовых видов спорта второго зрелого возраста выявлена повышенная фоновая активность коры надпочечников и увеличение содержания кортизола в крови при субмаксимальной физической работе. При анализе индивидуальных реакций у тренированных мужчин при физической работе в большинстве случаев наблюдается повышение содержания кортизола в крови, тогда как у нетренированных мужчин уменьшение.

Ключевые слова: кортизол, мужчины, физические нагрузки, циклические и силовые виды спорта, уровень тренированности.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире значительная часть человеческой популяции может быть подвержена стрессу, и отнесена к легко утомляемым людям с ограниченными компенсаторно-приспособительными возможностями [1]. Достаточное количество из них составляют нетренированные лица различного возраста, ведущие малоподвижный образ жизни. В условиях физической нагрузки (большинство людей поставлены в безвыходные ситуации, связанные с вынужденной физической работой), эти люди могут подвергаться повреждающим эффектам стресса [2]. Более того, существуют категории людей, которые напротив активно занимаются спортом, причем не только в молодом, но и в зрелом и даже преклонном возрасте. В данном случае, в условиях тренировочных и соревновательных нагрузок, неадекватных функциональным возможностям и возрастным особенностям организма, спортсмены также могут быть подвержены повреждающим эффектам стресса и срыву адаптации [3]. В формировании подобных эффектов большое значение отводится гормонам, принимающим участие в реализации стрессорных адаптационных изменений, обеспечивающих связь между управляющим органом (центральной нервной системой) и исполнительными органами, тканями, клетками

[4]. Важная роль в реализации адаптивных эффектов стресса принадлежит гормонам надпочечников – глюкокортикоидам. Повышенные потребности в этих адаптивных гормонах в условиях стресса подвергают большому напряжению механизмы эндокринного гомеостаза. Необходимо, например, чтобы во время интенсивной физической работы уровень кортизола повысился, так как запасы углеводов при мышечной деятельности быстро истощаются. Для дальнейшего образования энергии используются свободные жирные кислоты, ускорению окисления которых способствует кортизол [5]. Кроме того, кортизол усиливает катаболизм белков, освобождая аминокислоты для глюконеогенеза, который реализуется в печени [6]. Также кортизол по принципу обратной связи стимулирует активность симпатoadреналовой системы в управлении приспособительными процессами, что может прямо или опосредованно отразиться на состоянии важнейших органов и функциональных систем организма [4]. В связи с этим изучение гормональных механизмов адаптации у людей различного возраста и уровня тренированности открывает путь к выявлению эффективных мер укрепления их здоровья и профилактики патологических состояний.

Целью работы явилось изучение изменений содержания кортизола в организме мужчин различного возраста и уровня тренированности при выполнении физической работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего было обследовано 128 относительно здоровых мужчин с различным уровнем тренированности первого и второго зрелого возраста от 22-60 лет. Группы нетренированных лиц составили относительно здоровые мужчины, не занимающиеся физической культурой (n=42). В свою очередь группы тренированных мужчин составили молодые спортсмены и спортсмены-ветераны (n=86) представители циклических и силовых видов спорта. Исследование физической работоспособности проводили с использованием двухступенчатого велоэргометрического теста PWC_{170} (для тренированных) и его модификации PWC_{AF} (для нетренированных лиц) [7]. Концентрацию кортизола и тестостерона в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов СтериодИФА-кортизол-01 и TESTOSTERON ELISA KIT. Для изучения содержания кортизола в организме испытуемых применяли многократные заборы венозной крови после каждой ступени нагрузки, выполняемой на велоэргометре [8]. Полученные результаты обработаны статистически. Во время эксперимента испытуемые спортсмены освобождались от тренировок. Исследования проводились после получения добровольного информированного согласия обследованных лиц и одобрения комиссии по биоэтике Таврического национального университета им. В.И. Вернадского.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из теории общего адаптационного синдрома, усиление адренокортикальной активности при физической нагрузке объясняется тем, что интенсивная физическая нагрузка является стрессором. С позиций этой теории

отсутствие усиления адренкортикальной активности при мышечной работе наблюдается в случаях, когда организм обладает хорошей резистентностью к данной нагрузке. Если это так, то наличие или отсутствие, а также степень усиления адренкортикальной активности должны зависеть от параметров нагрузки и уровня тренированности [2] а также от наличия в организме анаболических препаратов, что характерно для представителей силовых видов спорта [9]. Для исключения влияния последнего фактора на результаты исследования, у всех обследованных был определен уровень тестостерона в сыворотке крови, который находился в пределах среднего уровня референсных значений (10,4 – 41,6 нмоль/л) [10].

Уровень тренированности испытуемых соотносили с уровнем физической работоспособности, который определяли в тесте PWC_{170} . Так у нетренированных мужчин 22-25 и 36-60 лет мощность физической работы составила соответственно $1122,3 \pm 155,3$ и $629,2 \pm 74,4$ $кг \cdot м \cdot мин^{-1}$ ($p < 0,05$). Тогда как у их тренированных сверстников 18-25 и 35-60 лет мощность физической работы находилась в диапазоне от $1519,2 \pm 271,8$ до $1730,8 \pm 264,08$ $кг \cdot м \cdot мин^{-1}$ (рис. 1). То есть у нетренированных мужчин мощность физической работы была значительно ниже в сравнении с тренированными. В свою очередь, интенсивность физической нагрузки в тесте PWC_{170} имела практически одинаковую пульсовую стоимость у всех испытуемых, и находилась в диапазоне величин частоты сердечных сокращений (ЧСС), регламентированных условиями теста (соответственно ЧСС на 1-й ступени рекомендована в диапазоне 110-120 уд/мин., а на 2-й ступени – 145-160 уд/мин.) [7].

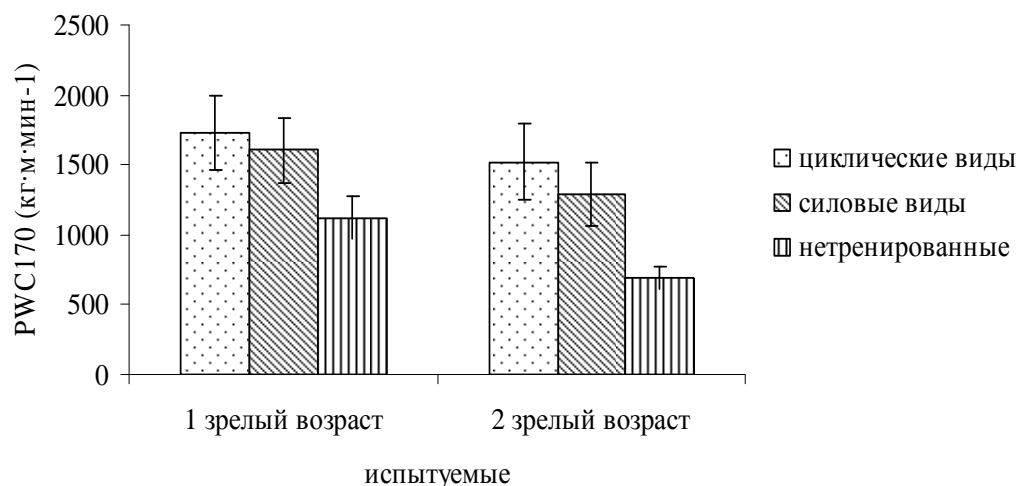


Рис. 1. Уровень физической работоспособности обследованных мужчин

Результаты исследований, касающиеся изучения концентрации кортизола в сыворотке крови испытуемых показали, что у нетренированных мужчин первого и второго зрелого возраста содержание кортизола после субмаксимальной нагрузки снижалось по отношению к покою (соответственно первый зрелый возраст нагрузка – $310,6 \pm 48,14$ нмоль/л, покой – $477,9 \pm 131,86$ нмоль/л, ($p < 0,05$.) и второй зрелый

возраст нагрузка – $386,2 \pm 40,79$ нмоль/л, покой – $507,1 \pm 40,91$ нмоль/л, ($p < 0,05$)), (рис. 2, 3). У тренированных мужчин первого зрелого возраста, представителей циклических видов спорта содержание кортизола при субмаксимальной физической нагрузке не изменялось в сравнении с покоем (покой – $521,1 \pm 120,2$ нмоль/л, нагрузка – $778,5 \pm 240,7$ нмоль/л, $p > 0,05$). Тогда как у мужчин представителей циклических видов спорта второго зрелого возраста содержание кортизола в сыворотке крови при выполнении субмаксимальной физической работы достоверно изменялось в сравнении с покоем (покой – $456,36 \pm 17,06$ нмоль/л, нагрузка – $544,34 \pm 40,00$ нмоль/л, $p < 0,05$). В свою очередь у мужчин представителей силовых видов спорта содержание кортизола при выполнении субмаксимальной нагрузки было наибольшим. Так у 18-25 летних мужчин концентрация кортизола в сыворотке крови была равной $815,3 \pm 240,59$ нмоль/л и по отношению к покою достоверно не изменялась ($p > 0,05$). В свою очередь у 35-60 летних мужчин, представителей силовых видов спорта, содержание кортизола повысилось при выполнении физической работы субмаксимальной интенсивности до $824,7 \pm 67,23$ нмоль/л, $p < 0,05$.

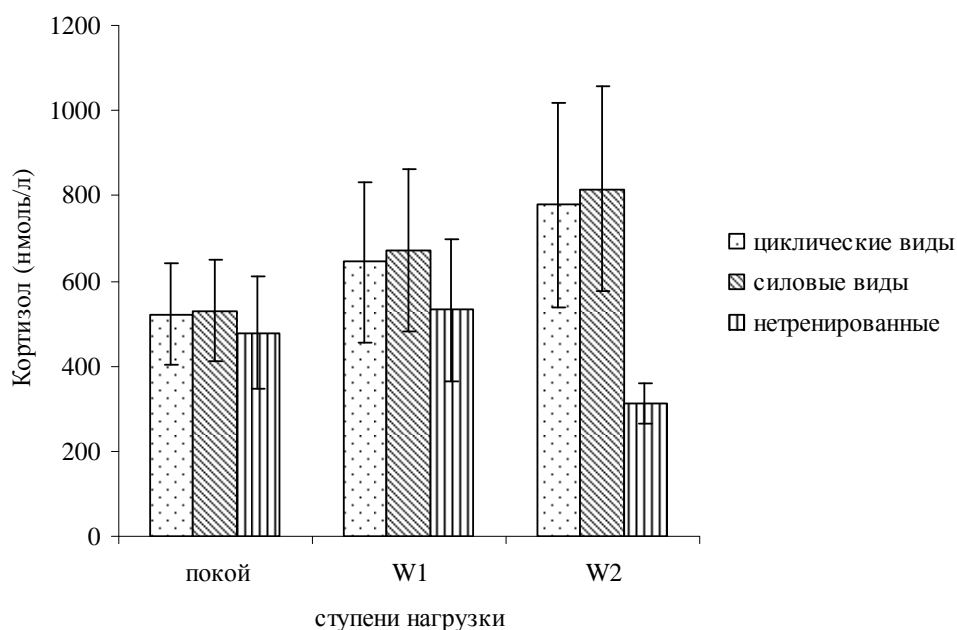


Рис. 2. Содержание кортизола в организме мужчин первого зрелого возраста при выполнении двухступенчатой велоэргометрической нагрузки

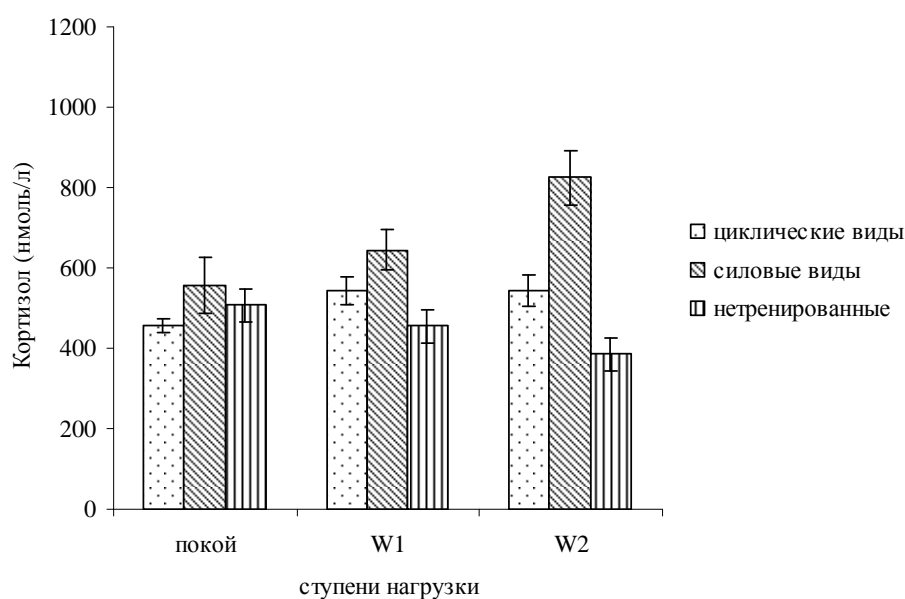


Рис. 3. Содержание кортизола в организме мужчин второго зрелого возраста при выполнении двухступенчатой велоэргометрической нагрузки

Развивающиеся в организме адаптационные реакции независимо от уровня тренированности, возраста, и параметров физической нагрузки могут иметь и выраженные индивидуальные особенности [11]. В связи с этим нами изучены индивидуальные особенности изменения содержания кортизола в сыворотке крови при выполнении физической работы. Нами показано, что независимо от интенсивности физической работы у нетренированных мужчин в большинстве случаев (от 62 до 100%) наблюдается снижение содержания кортизола в сыворотке крови. Тогда как у тренированных мужчин представителей различных видов спорта уровень кортизола при физической работе в большинстве случаев (от 71 до 100%) повышается (табл. 1).

В настоящее время известно, что физический стресс принадлежит к ряду наиболее мощных и распространенных природных стимулов, влияющих на все функции организма [4]. В известной монографии [2] показано, что нейроэндокринная система первой реагирует на физические воздействия и проявлением подобных адаптационных реакций (особенно во время срочной адаптации и в частности на ее повреждающей стадии) в нетренированном организме является гиперактивация стресс-реализующих систем (гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и адренергической), вызывающей значительное по величине и длительности высвобождение соответствующих гормонов, в том числе глюкокортикоидов, обладающих в избытке прессорным и катаболическим эффектами. Однако наши исследования показали, что в нетренированном организме мужчин первого и второго зрелого возраста во время срочной адаптации к

физической нагрузке напротив наблюдается снижение глюкокортикоидной активности коры надпочечников. При этом наиболее адекватными на наш взгляд являются адаптационные реакции мужчин второго зрелого возраста. Установлено, что с возрастом активность организма в преодолении стресса снижается, изменяется характер вовлечения эндокринных желез, сокращается диапазон приспособления на уровне функциональных систем, легче и быстрее развивается фаза истощения приспособительных возможностей организма. Существенное значение в механизме возрастных изменений течения общего адаптационного синдрома имеют сдвиги и в самом гипофизе, инкреция АКТГ у старых животных при стрессе ниже, также снижается реакционная способность коры надпочечников при действии АКТГ. Все это ограничивает возможную амплитуду ряда адаптационных проявлений при стрессе [11]. В связи с этим выявленное нами снижение глюкокортикоидной активности коры надпочечников у мужчин второго зрелого возраста может свидетельствовать об ограничении амплитуды адаптационных реакций на уровне нейрогормонального звена, что обусловлено возрастными изменениями в соотношениях различных звеньев нейро-гормональной регуляции в осуществлении адаптации [12].

Таблица 1.

Изменение содержания кортизола у обследованных мужчин при выполнении двухступенчатой велоэргометрической нагрузки

Возраст (лет)	Группы испытуемые	Ступени нагрузки			
		1		2	
		увеличение (кол-во случаев, %)	уменьшение (кол-во случаев %)	увеличение (кол-во случаев %)	уменьшение (кол-во случаев %)
22-25	Спортсмены (циклические виды)	71	29	82	18
	Спортсмены (силовые виды)	71	29	82	18
	нетренирован ные	38	62	15	85
36-60	Спортсмены (циклические виды)	100	0	100	0
	Спортсмены (силовые виды)	88	12	96	4
	нетренирован ные	24	76	0	100

Что же касается нетренированных мужчин первого зрелого возраста 18-25 лет, то выявленное нами снижение глюкокортикоидной активности коры надпочечников на применяемые физические воздействия может быть обусловлено повышенной реактивностью ЦНС, сопровождающейся запредельным торможением. Так при обсуждении основных положений теории адаптивного реагирования Георгиевским А.Б. было отмечено: «Нельзя себе представить реактивную возбудимость, которая не была бы ограничена торможением. До определенного момента возрастание силы внешнего агента ведет к возбуждению реактивных структур. Однако реактивные возможности живых систем не беспредельны. Поэтому чрезмерно сильное или чрезмерно длительное раздражение вызывает запредельное торможение, которое спасает реактивные структуры от истощения и гибели» [13]. Также Виру А.А. [6] указывал на снижение продукции глюкокортикоидов в связи с физической нагрузкой, вызывающей переутомление. Очевидно, что такая адаптационная реакция у нетренированных мужчин первого зрелого возраста могла быть вызвана переутомлением в связи с отсутствием, какого либо адаптационного фундамента (фундамента рефлексии) к данному физическому воздействию в связи с низким уровнем тренированности.

В свою очередь отсутствие достоверных изменений в содержании кортизола в сыворотке крови при физической работе у мужчин первого зрелого возраста представителей циклических видов спорта может быть обусловлено высокой резистентностью физической нагрузке, что является проявлением долговременной адаптации, для которой характерным является высокая степень экономичности функций [2, 14].

Аналогичная тенденция наблюдается и в отношении низкой адренокортикальной активности у мужчин первого зрелого возраста представителей силовых видов спорта, что также обусловлено сформировавшейся адаптацией к физической нагрузке в связи с достаточным уровнем тренированности. Однако у мужчин второго зрелого возраста представителей циклических и силовых видов спорта физическая работа субмаксимальной интенсивности на велоэргометре вызывает повышение содержания кортизола в крови, что является адекватной реакцией на физическую нагрузку, вызывающую «переключение» метаболизма на катаболические процессы в связи с увеличением энерготрат. При этом у представителей силовых видов спорта содержание кортизола является наибольшим. Это может быть связано с напряжением функций стресс-реализующих систем организма в условиях регулярного применения силовых нагрузок, вызывающих значительное увеличение энерготрат [15], на что указывает и повышенная фоновая активность глюкокортикоидной функции у представителей силовых видов спорта в сравнении с их сверстниками, занимающимися циклическими видами спорта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У всех обследованных нетренированных мужчин при физической работе выявлено снижение содержания кортизола в сыворотке крови. Такие адаптационные реакции у мужчин первого зрелого возраста могут быть вызваны переутомлением в связи с отсутствием, какого либо адаптационного

фундамента к данному физическому воздействию в связи с низким уровнем тренированности. У мужчин второго зрелого возраста низкая адренокортикальная активность может свидетельствовать об ограничении амплитуды адаптационных реакций на уровне нейрогормонального звена, что обусловлено возрастными изменениями в соотношениях различных звеньев нейро-гормональной регуляции в осуществлении адаптации.

2. У мужчин, представителей циклических и силовых видов спорта первого зрелого возраста достоверных изменений содержания кортизола в крови при физической работе не выявлено, что обусловлено высокой резистентностью к физической нагрузке в связи с формированием долговременной адаптации, для которой характерным является высокая степень экономичности функций.
3. У мужчин, представителей циклических и силовых видов спорта второго зрелого возраста при выполнении субмаксимальной физической работы выявлено повышение содержания кортизола в крови, что свидетельствует об увеличении энерготрат. При этом у представителей силовых видов спорта содержание кортизола в крови является наибольшим, что может быть связано с повышенной фоновой активностью глюкокортикоидной функции, вызванной напряжением функций стресс-реализующих систем организма в условиях систематического применения силовых нагрузок.
4. При анализе индивидуальных реакций у тренированных мужчин при физической работе в большинстве случаев (от 71 до 100%) наблюдается повышение содержания кортизола в крови, тогда как у нетренированных мужчин, напротив, в большинстве случаев (от 62 до 100%) наблюдается уменьшение.
5. Выявленные типы реакций могут быть использованы с целью коррекции процесса адаптации к физическим нагрузкам у мужчин различного возраста и уровня тренированности.

Список литературы

1. Музалевская Н.И. Оценка адаптационного ресурса и состояния здоровья старшеклассников методом нелинейной стохастической кардиоинтервалометрии / Н.И. Музалевская, В.Г. Каменская // Физиология человека. – 2007. – Т.33, №2. – С. 60-68.
2. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшеникова – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
3. Филиппов М.М. Гонадо-надпочечниковые изменения у спортсменов-ветеранов при мышечной деятельности / М.М. Филиппов, С.В. Погодина, В.С. Юферев // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия «Медико-биологические науки». – №2. – 2013. – С. 78-85.
4. Резников А.Г. Эндокринологические аспекты стресса / Резников А.Г. // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – №4(10). – С. 11-17.
5. Регуляция секреции глюкокортикоидов при спортивной деятельности / М.Н. Остроумова, Ю.В. Высочин, Э.В. Земцовский [и др.] // Физиология человека. – 1989. – Т.15, №4. – С. 68-78.
6. Виру А.А. Функции коры надпочечников при мышечной деятельности / Виру А.А. – М.: Медицина, 1977. – 176 с.
7. Белоцерковский З.Б. Эргометрические и кардиологические критерии физической работоспособности у спортсменов / Белоцерковский З.Б. – М.: Советский спорт, 2005. – 312 с.

8. Юрковский О.И. Методы взятия крови для клинико-лабораторных исследований / О.И. Юрковский // Медицинская помощь. – 1998. – №5. – С. 27-30.
9. Олешко В.Г. Силовые виды спорта / Олешко В.Г. – К.: Олимпийская литература, 2004. – 235 с.
10. Эндокринология. Под ред. Н. Лавина. Пер. с англ. – М., Практика, 1999. – 1128с., илл.
11. Фролькис В.В. Регулирование, приспособление, старение / Фролькис В.В. – Л.: Наука, 1970. – 432 с.
12. Кузина И.Н. Возрастные изменения концентрации гормонов кортикотропной оси в крови мужчин: связь с другими гормональными осями / И.Н. Кузина, В.В. Киликовский, О.В. Смирнова // Физиология человека. – 2010. – Т.36, №5. – С. 101-109
13. Философские проблемы теории адаптации. / Под ред. Г.И. Царегородцева. – М.: Мысль, 1975. – 277 с.
14. Платонов В.Н. Адаптация в спорте / Платонов В.Н. – Киев.: Здоров'я, 1988. – 216 с.
15. Увеличение мышечной массы и силы при низкоинтенсивной силовой тренировке без расслабления связано с гормональной адаптацией / Д.В. Попов, Д.В. Цвиркун, А.И. Нетреба [и др.] // Физиология человека. – 2006. – Т32, №5. – С.121-127.

Погодина С.В. Зміни вмісту кортизолу в організмі чоловіків різного віку і рівня тренуваності при виконанні фізичної роботи / С.В. Погодина, С.М. Козлова, Л.В. Лісконог, В.С. Юфереv // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 132-141.

У статті обговорюються особливості зміни вмісту кортизолу в сироватці крові у чоловіків різного віку і рівня тренуваності при виконанні фізичної роботи. Показано, що у всіх обстежених нетренованих чоловіків при фізичній роботі виявлено зниження вмісту кортизолу в сироватці крові. У тренуваних чоловіків, представників циклічних і силових видів спорту змін аденокортикальної активності при фізичній роботі не виявлено. У чоловіків представників силових видів спорту другого зрілого віку виявлена підвищена фоновая активність кори надниркових залоз і збільшення вмісту кортизолу в крові при субмаксимальній фізичній роботі. При аналізі індивідуальних реакцій у тренуваних чоловіків при фізичній роботі в більшості випадків спостерігається підвищення вмісту кортизолу в крові, тоді як у нетренованих чоловіків зменшення.

Ключові слова: Кортизол, чоловіки, фізичні навантаження, циклічні і силові види спорту, рівень тренуваності.

CHANGES CORTISOL LEVELS IN MEN OF DIFFERENT AGES AND LEVELS OF PERFORMANCE DURING PHYSICAL WORK

Pogodina S.V., Kozlova S.N., Liskonog L.V., Yuferev V.S.

*Tavrida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: yuvser@live.ru*

All the examinees untrained men during physical work showed a reduction of cortisol in the blood serum. Such adaptive response of the first men of mature age can be caused by fatigue due to lack of, or adaptation of any foundation to this physical effect due to the low level of fitness. Males mature second lowest adrenocortical activity may be indicative of the amplitude limitation adaptive responses at the level of neurohormonal level, due to age-related changes in the proportions of various parts of the neuro- hormonal regulation in the implementation of adaptation. Males, representatives of cyclic and power sports first mature age significant changes in cortisol levels during physical exercise is not revealed due to the high resistance to physical stress due to the formation of long-term adaptation, which is characteristic for a high degree of efficiency functions. Males, representatives of cyclic and power sports second adulthood when performing

submaximal physical work revealed elevated levels of cortisol in the blood, which indicates an increase in energy expenditure. At the same time representatives of power sports cortisol in the blood is the highest that can be associated with an increased background activity of the glucocorticoid function caused by stress functions stress implementing body systems under the systematic application of power loads. When analyzing individual reactions in trained men during physical exercise in the majority of cases (between 71 and 100 %) is observed increase in the content of cortisol in the blood, whereas in untrained men, on the contrary, in most cases (62 to 100 %) is observed decrease.

Keywords: cortisol, men, exercise, cyclic and power sports, fitness level.

References

1. Muzalevskaja N.I., Kamenskaja V.G. Ocenka adaptacionnogo resursa i sostojanija zdorov'ja starsheklassnikov metodom nelinejnoj stohasticheskoj kardiointervalometrii. *Fiziologija cheloveka* 2007; 33(2): 60-68.
2. Meerson F.Z., Pshennikova M.G. Adaptacija k stressornym situacijam i fizicheskim nagruzkam. – M.: Medicina, 1988. – 256 s.
3. Filippov M.M., Pogodina S.V., Juferev V.S. Gonado-nadpochechnikovyje izmenenija u sportsmenok-veteranov pri myshechnoj dejatel'nosti. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Serija «Mediko-biologicheskie nauki»* 2013; 2: 78-85.
4. Reznikov A.G. Jendokrinologicheskie aspekty stressa. – *Mezhdunarodnyj jendokrinologicheskij zhurnal* 2007; 4(10): 11-17.
5. Ostroumova M.N. Vysochin Ju.V., Zemcovskij Je.V., Kuznecova G.G., Zil'ber M.L., Himich O.K., Kavelich V.B., Krupskaja L.N. Reguljacija sekrecii gljukokortikoidov pri sportivnoj dejatel'nosti. *Fiziologija cheloveka* 1989; 15 (4): 68-78.
6. Viru A.A. Funkcii kory nadpochechnikov pri myshechnoj dejatel'nosti / M.: Medicina, 1977: 176.
7. Belocerkovskij Z.B. Jergometricheskie i kardiologicheskie kriterii fizicheskoj rabotosposobnosti u sportsmenov / M.: Sovetskij sport, 2005: 312.
8. Jurkovskij O.I. Metody vzjatija krovi dlja kliniko-laboratornyh issledovanij. *Medicinskaja pomoshh'* 1998; 5: 27-30.
9. Oleshko V.G. Silovye vidy sporta / K.: Olimpijskaja literatura 2004: 235.
10. Jendokrinologija. Pod red. N. Lavina. Per. s angl. – M., Praktika, 1999:1128.
11. Frol'kis V.V. Regulirovanie, prispособlenie, starenie / L.: Nauka, 1970: 432.
12. Kuzina I.N., Kilikovskij V.V., Smirnova O.V. Vozrastnye izmenenija koncentracii gormonov kortikotropnoj osi v krovi muzhchin: svjaz' s drugimi gormonal'nymi osjami / *Fiziologija cheloveka* 2010; 36(5): 101-109.
13. Filosofskie problemy teorii adaptacii. / Pod red. G.I. Caregorodceva. / M.: Mysl', 1975: 277.
14. Platonov V.N. Adaptacija v sporte. / Kiev.: Zdorov'ja, 1988: 216.
15. Popov D.V. Cvirkun D.V., Netreba A.I., Tarasova O.S., Prostova A.B., Larina I.M., Borovik A.S., Vinogradova O.V. Uvelichenie myshechnoj massy i sily pri nizkointensivnoj silovoj trenirovke bez rasslablenija svjazano s gormonal'noj adaptaciej. *Fiziologija cheloveka* 2006; 32 (5): 121-127.

Поступила в редакцию 28.04.2014 г.

УДК 612.82:612.014.4

**АНАЛІЗ ЗМІН МАСИ ТІЛА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ
ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ГАММА-ГІДРОКСИБУТИРАТУ ПІСЛЯ
ПЕРЕДАВЛЮВАННЯ СІДНИЧНОГО НЕРВА**

Родинський О.Г., Демченко Т.В.

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпропетровськ, Україна
E-mail: tatiana_mashko@mail.ru*

Встановлено, що в умовах хронічного введення гамма-гідроксибутирату (ГГОБ) натрію протягом чотирьох тижнів після одностороннього передавлювання сідничного нерва у щурів, спостерігалася відсутність класичного зниження маси тіла - так званої першотижневої «відповіді» на денервацію, а навпаки - відбувалося збільшення маси тіла експериментальних тварин не лише під час застосування ГГОБ, але і у віддалені терміни після припинення його використання. Розглядаються вірогідні механізми явищ, що спостерігались.

Ключові слова: гамма-гідроксибутират натрію, сідничний нерв, маса тіла, денервація, сила м'язів.

ВСТУП

Гамма-гідроксималяна кислота (ГГОМК) є близьким структурним аналогом гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) – гальмівного нейромедіатора в ЦНС. Натрієва сіль ГГОМК (гамма-гідроксибутират, ГГОБ) легко перетинає ГЕБ, перетворюючись на ГАМК [1]. Слід відмітити, що в фармакологічній номенклатурі, прийнятій в СРСР, ГГОБ раніше називався не гамма-гідрокси-, а гамма-оксибутиратом (ГОБ). Як природна ендогенна сполука з елементами ноотропної, антигіпоксично-антиоксидантної, органопротективної [2, 3] та антиноцицептивної активності [4-6], здатністю діяти як несинаптичний трофічний фактор [7], ця сполука відповідає усім тим критеріям, поєднання котрих, на наш погляд, могло б сприяти процесам посттравматичного відновлення. Виявлена нами раніше [8] здатність ГГОБ прискорювати відновлення сили довільних м'язових скорочень не лише травмованої кінцівки, але і збільшувати силу м'язів на контралатеральному боці за умов його хронічного введення щурам після одностороннього травмування сідничного нерва, ще більше підігріває інтерес до цієї сполуки. Вплив ГГОМК, очевидно, реалізується через ряд механізмів: вона є агоністом ГАМК_B-рецепторів; вона може перетворюватися на ГАМК [9]. В той же час ГГОМК здатна діяти по ГАМК-незалежному механізму за рахунок власних рецепторів [10]. Однак механізми дії ГГОМК залишаються до кінця не вивченими.

В літературі зустрічаються дані щодо анаболічної дії ГГОМК за нормальних умов [11], тоді як питання щодо анаболічного впливу ГАМК або ГГОМК за умов денервації залишається відкритим. Виходячи з цього, метою даної роботи було

виявлення наявності чи відсутності анаболічного впливу ГГОБ в посттравматичний період при хронічному застосуванні та у віддалений термін після його припинення.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експерименти проведені на молодих білих щурах самцях лінії Вістар відповідно з існуючими міжнародними вимогами і нормами гуманного відношення до тварин, яких було поділено на 2 групи. В першу групу увійшли контрольні тварини ($n=7$) з експериментальною травмою (однобічне передавлювання сідничного нерва), але без фармакологічної корекції. Щурам другої групи ($n=5$), починаючи з 1-ї доби після аналогової травми та впродовж наступних 4-х тижнів вводили ГГОБ (внутрішньоочеревинно, щоденно, в дозі 100 мг/кг маси тварини). Така схема введення обґрунтована тим, що перші тижні після нанесення травми периферичного нерва є критичними часом метаболічних перебудов для процесу функціонального відновлення [12].

Слід зазначити, що вихідна маса тіла тварин (до операції) в обох групах не мала достовірної різниці ($p>0,05$) та склала, в середньому, 212 г. Обидві групи тварин утримувались у віварію за нормальних фізіологічних умов на звичайному раціоні харчування і питному режимі. Щоденно зранку у щурів контрольної та експериментальної груп (не раніше, ніж через 24 години після останньої ін'єкції ГГОБ) протягом 4-х тижнів після операції, а також у віддалені терміни після неї (10-й та 12-й тижні) тобто через 6 та 8 тижнів після завершення введення ГГОБ, проводили вимірювання маси тіла за допомогою електронних вагів типу ТВЕ-2,1-0,01(найвищий клас точності). Цифрові дані результатів експериментів обробляли за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel та Statistica 6.0. (серійний номер AGAR 909 E415822FA). Вірогідність отриманих результатів при міжгруповому порівнянні, враховуючи перевірку на нормальність розподілення отриманих значень (за критеріями Колмогорова-Смірнова), оцінювали за допомогою критерію t-Стюдента. Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M) та стандартних похибок середнього ($\pm m$). При порівнянні показників в межах однієї групи (до та після операції або до та після введення препарату), керуючись тим, що аналізувалася залежна вибірка, використовували парний Т-тест. При порівнянні контрольної та експериментальної груп керувалися тим, що це незалежна вибірка, тому використовували двовибірковий Т-тест. При порівнянні тижневих приростів маси тіла в динаміці в межах групи виконували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Використовувалося 3 рівня статистичної значимості відмінностей результатів досліджень – $p<0,05$; $p<0,01$ та $p<0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Ми провели порівняльний аналіз змін маси тіла тварин обох груп, котрий виявив суттєві та достовірні зміни (рис. 1).

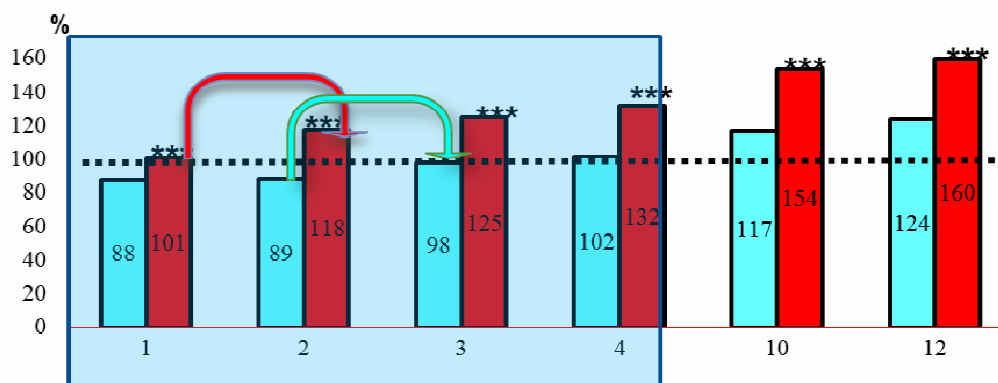


Рис. 1. Динаміка середніх показників маси тіла (%) білих щурів у ранній та пізній періоди після травми сідничного нерва та під впливом хронічного введення (протягом чотирьох тижнів) оксибутирату натрію.

Примітки: По вісі абсцис - час після пошкодження нерва, тижні; по вісі ординат – зміни маси тіла (%) тварин контрольної (світлий стовбець) та експериментальної (темний стовбець) груп по відношенню до вихідної середньої маси тіла (212 г) до операції (прийнятої за 100 % та позначеної пунктиром). Стрілочками показані найбільші достовірні ($p < 0,05$) тижневі прирости маси тіла в групах. *** - різниця між дослідом і відповідним контролем при $p < 0,001$.

Так, через тиждень після денервації у тварин контрольної групи маса тіла значно знизилася та становила 88 % від вихідного доопераційного значення, тоді як у щурів експериментальної групи вона не змінилася. Класичне зниження маси тіла (так звана «відповідь» на денервацію) [13], котру ми спостерігали у тварин контрольної групи наприкінці 1-го тижня після операції може бути пов'язана за таких умов не лише зі зниженням маси денервованих м'язів [12], але і з відчуттям посттравматичного болю [14]. Таким чином, відсутність змін маси тіла експериментальних тварин за умов денервації під впливом ГГОБ, може пояснюватися як анаболічними, так і антиноцицептивними його ефектами. Оскільки відомо, що за умов пошкодження сідничного нерва, відбувається зниження активації нисхідних антиноцицептивних шляхів, що може сприяти м'язовій атрофії та моторній дисфункції [15] та лежить в основі виникнення посттравматичного периферичного болю. Це говорить про те, що за умов пошкодження периферичного нерва розвивається больовий синдром, пов'язаний з виникненням генератора патологічно посиленого збудження (ГППЗ) в системі больової чутливості та надходження в спинний мозок ноцицептивної імпульсації, що призводить до деполяризації ноцицептивних нейронів та їх гіперактивності. Недостатність гальмівного контролю в популяції нейронів, що складають ГППЗ, в тому числі - недостатність ГАМК – лежить в основі патогенезу виникнення болю [4, 16]. Ми припускаємо, що хронічне введення ГГОБ могло призводити до зникнення такої гальмівної недостатності, тобто викликати гальмування нейронів, відповідальних за утворення патологічної алгічної системи (ПАС), знижуючи при цьому активність ГППЗ. Відомо, що ГГОБ здатен блокувати збудження на рівні таламуса та пригнічувати проведення збудження волокнами

спиноталамічного тракту [1, 2]. Ми не ставили собі за мету вивчити активність ноцицептивної системи за умов хронічного введення ГГОБ після денервації, однак спостерігали, що при пошкодженні нерва поведінка тварини контрольної групи значно відрізнялася від такої у тварин експериментальної групи. По-перше, тварини без впливу ГГОБ на перших тижнях після операції були більш агресивними та дратівливими, втрачали вагу, не користувалися пошкодженою кінцівкою (тягали її за собою), довго та часто вмивалися, у них виникав тривалий чухальний рефлекс тією лапою, на якій моделювалася операційна травма. Тоді як, тварини експериментальної групи були менш агресивними, вони набирали вагу, у них спостерігалось зменшення тривалості чухального рефлексу та вони вже з 2-го тижня після операції досить активно користувалися пошкодженою кінцівкою. Наші спостереження співпадають з даними інших авторів [17], котрі вважають, що превентивний (введення з 1-го дня після операції) та лікувальний (введення з 12-го дня після операції) ефекти хронічного введення ОБН у вигляді зниження больової чутливості за умов нейропатичного больового синдрому пов'язані з його здатністю до посилення пресинаптичного, реципрокного та низхідного гальмування сегментарного апарату спинного мозку. Крім того, відомо, що ГГОМК попереджає посилений викид норадреналіну в перші години розвитку патологічного процесу, зберігаючи депо цього медіатора, а в подальшому – призводить до виділення норадреналіна та серотоніна, що сприяє посиленню низхідного моноамінергічного гальмування; підвищує рівень динорфіна та β -ендорфіна в різних ділянках головного мозку, прискорює вивільнення опіоїдів [2]. Відомо про використання ГГОБ в реабілітації пацієнтів з травмами периферичної нервової системи для боротьби з посттравматичною депресією (яка виникає через підвищення чутливості пацієнта до болю) з метою формування мотивації до реабілітаційних занять під час відновлювального процесу [4]. Не можна виключити, що тварини експериментальної групи через низьку чутливість до посттравматичного болю під впливом хронічного введення ГГОБ, мають можливість більш раннього настання тренування кінцівки, тобто менш обмежене використання її під час рухової активності порівняно з контрольною групою, що, безумовно, може позитивно позначитися на процесі відновлення скоротливої активності м'язів цієї кінцівки.

Через 2 тижні після операції маса тіла тварин контрольної групи залишалася незмінно зниженою, тоді як маса експериментальних тварин зросла на 18 % порівняно з вихідним доопераційним рівнем. Крім того, двотижнєве хронічного введення ГГОБ, у тварин експериментальної групи призвело до найбільшого тижневого приросту маси тіла (в середньому, на 38 г). Аналогічний приріст маси тіла (в середньому, на 20 г). У тварин контрольної групи спостерігався через 3 тижні після операції та сприяв практично повному відновленню маси тварин (98 % вихідного рівня). У тварин експериментальної групи на третьому тижні після операції суттєво збільшилася маса тіла ($p < 0,001$), складаючи 125 % вихідного рівня. Через 4 тижні після хронічного введення ГГОБ маса тіла тварин експериментальної групи була на 30 % більшою, ніж в контролі ($p < 0,001$). Середній приріст маси тіла протягом раннього терміну після денервації у тварин контрольної групи склав 7 г проти 17 г в експериментальній групі. Звертає на себе увагу, що у віддалені терміни після операції (10-й та 12-й тижні), навіть за відсутності впливу ГГОБ, у тварин експериментальної групи виявлено збільшення

маси тіла по відношенню до вихідної доопераційної ваги на 116-127 г проти відповідного збільшення на 37-52 г у тварин контрольної групи (рис.1).

Таким чином, аналізуючи зміни маси тіла експериментальних тварин, ми дійшли висновку, що зростання маси тіла тварин, яке відбувається починаючи з 2-го тижня хронічного введення, узгоджується з отриманими нами раніше результатами досліджень по вивченню змін сили довільних м'язових зусиль під впливом ГГОБ [8]. Раніше ми виявили, що починаючи з 2-го по 4-й тижні хронічного післяопераційного введення, ГГОБ сприяє приросту ($p < 0,001$) сили довільних скорочень м'язів як травмованої («м'язи-розгиначі» - в 2-2,5 рази; «м'язи-згиначі» – 50%), так і контралатеральної (24-41 %) кінцівок порівняно з контролем.

Збільшення маси тіла експериментальних тварин та зростання сили м'язів на обох кінцівках (травмованій та контралатеральній) свідчать про те, що стимулюючий вплив ГГОБ в умовах денервації може бути пов'язаний з ендокринологічним ефектом дії препарату – здатністю значно підвищувати концентрацію гормону росту в крові [1, 2, 11, 18]. Саме з функціями цього гормону пов'язують анаболічний ефект ГГОМК у вигляді посилення м'язового росту, котрий активно використовується бодібілдерами. Відомо, що анаболічні гормони (в тому числі, соматотропний гормон, в більшій мірі впливають на «швидкі» м'язові волокна, прискорюючи синтез «швидкого» міозина в них. Механізм дії соматотропного гормону полягає в тому, він здатен діяти на печінку, викликаючи утворення в ній особливого білка – соматомедина (інсуліноподібного фактора росту), котрий є гормональним посередником між СТГ та білковими молекулами. Утворюючись в печінці, соматомедин діє безпосередньо на генетичний апарат клітини, викликаючи підсилення білкового синтезу. Ми не виключали здатність ГГОМК активувати метаболічний шлях, відомий як «пентозний шунт», котрий відіграє важливу роль в процесах синтезу білків [1], забезпечувати протейнзберігаючий ефект. Ми вважаємо, що саме вищенаведений анаболічний ефект ГГОБ по відношенню до скелетно-м'язової тканини і є причиною збільшення сили довільних м'язових скорочень обох кінцівок та зростання маси тканин.

У віддалений термін після попереднього введення ГГОБ (тобто на 10-му та 12-му тижнях після операції) його анаболічний вплив підтверджується не лише зафіксованим нами підвищенням маси тіла експериментальних тварин (на 30 %), але і співпадає з попередніми результатами, що засвідчили збільшення сили м'язів як попередньо травмованої (відповідно: «м'язи-розгиначі» - 40-30 %; м'язи-згиначі – 5-4 %), так і контралатеральної (відповідно: «м'язи-розгиначі» - 26-20 %, м'язи-згиначі – 48-36 %) кінцівок порівняно з контролем. Таким чином, ми вважаємо, що хронічний стимулюючий вплив ГГОБ на силу довільних м'язових скорочень пов'язаний переважно з його метаболічними ефектами.

ВИСНОВКИ

1. У щурів, що знаходились під впливом хронічного введення гамма-гідроксибутирату після однобічного передавлювання сідничного нерва, спостерігалась відсутність класичного зниження маси тіла як «відповідь на денервацію».

2. Анаболічний ефект від хронічного введення гамма-гідроксибутирату спостерігається починаючи з 2-го тижня хронічного введення препарату.
3. Попереднє хронічне введення гамма-гідроксибутирату сприяє збільшенню маси тіла експериментальних тварин у віддалені терміни після денервації.

Список літератури

1. Waszkielewicz A. Hydroxybutyric acid (GHB) and its chemical modifications: a review of the GHBergic system", / A. Waszkielewicz, J. Bojarski // *Pol. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 56, №1. – P. 43–49.
2. Different actions of gamma-hydroxybutyrate: a critical outlook / C. Greiner, J.E. Röhl, H. Wassmann [et al.] // *Neurol. Res.* – 2003. – Vol. 25, №7. – P.759-763.
3. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антигипоксантов (часть II) / С.В. Оковитый // *ФАРМиндекс-Практик.* – 2005. – №7. – С. 48-63.
4. Коваленко А.П. Антидепрессанты в реабилитации пациентов с заболеваниями и травмами ПНС / А.П. Коваленко // *Псих. расстройства в общей медицине.* – 2008. – №4. – С.1-6.
5. Крупина Н.А. Моделирование дофаминдефицитзависимого депрессивного состояния на фоне развития болевого синдрома у крыс / Н.А. Крупина // *Боль.* – 2006. – № 4. – С.11-17.
6. Экспериментальное исследование местного применения натрия оксибутирата в лечении болевых синдромов лица / Н.Г. Коротких, В.А. Николаевский, И.Н. Лесникова [и др.] // *Журнал теоретической и практической медицины.* – 2003. – № 1. – С.49-51.
7. Represa A. Trophic actions of GABA on neuronal development / A. Represa, Y. Ben-Ari // *Trends Neurosci.* – 2005. – № 28. – P. 278-283.
8. Родинський О.Г. Вплив системного введення гамма-гідроксибутирату на відновлення функцій дистальних м'язів задньої кінцівки щурів після передавлювання сідничного нерва / О.Г. Родинський, І.Я. Сердюченко, Т.В. Демченко // *Нейрофізіологія.* – 2011. - № 2. – С. 134–145.
9. Crunelli V. Unravelling the brain targets of γ -hydroxybutyric acid / V. Crunelli, Z. Emri, N. Leresche // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2006. - V.6, №1. – P. 44-52.
10. Brattacharya I. GHB carrier-mediated transport across blood-brain barrier / I. Brattacharya, M. K. Boje // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 2004. – V. 311, № 1. — P. 92-98.
11. Cauter E. Simultaneous stimulation of slow wave sleep and growth hormone secretion by gamma-hydroxybutyrate in normal young men / E. Cauter, L. Plat, M. Scharf // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol.100, №3. – P.745-753.
12. Ткаченко В.П. Влияние различных видов денервации на трофику скелетной мышцы / В.П. Ткаченко, В.В. Колдунов // *Карповские чтения : материалы I Всеукраинской научной морфологической конф., 18-21 мая 2004 г.: тезисы докл.* – Днепропетровск, 2004. – С. 56-59.
13. Muller F.L. Denervation – induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production / F.L. Muller, W.Song, Y.C. Jang // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. - V. 293, № 3. - P. 1159 – 1168.
14. Хоженко Е.В. Комплексная диагностика и терапия неврологических нарушений при посттравматических расстройствах: автореф. дис. ... док. мед. наук: спец. 14.01.11 "Нервные болезни" / Е.В. Хоженко. - Москва, 2011. - 33 с.
15. Kim T.-W. Effects of amygdalin on the functional recovery and c-Fos expression in the ventrolateral periaqueductal gray region after sciatic crushed nerve injury in rats / T.-W. Kim, H.-H. Lim, Y.-K. Song // *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine.* – 2008. – Vol. 7, № 5. – P. 556-563.
16. Кукушкин М.Л. Неврогенная (невропатическая) боль / М.Л. Кукушкин // *Лекарственный вестник.* – 2006. - №6. - С. 61-64.
17. Данилова Е.И. Действие оксибутирата натрия при болевых симптомах / Е.И. Данилова, В.Н. Графова, Р.У. Островская // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 1996. - № 4. – С. 395–398.
18. Manore M. A-Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance / M. Manore, R. Meeusen, B. Roelands // *Br. J. Sports Med.* – 2011. - Vol. 45, №1. – P. 73–74.

Родинский А.Г. Анализ изменений массы тела экспериментальных крыс в условиях хронического введения гамма-гидроксибутирата после передавливания седалищного нерва / А.Г. Родинский, Т.В. Демченко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С.142-149.

Установлено, що в умовах хронічного введення гамма-гідроксибутирата (ГГОБ) натрія на протязі чотирьох тижнів після одностороннього передавливання седалищного нерва у крыс, спостерігалося відсутність класичного зниження маси тіла - так называємого «ответа» на денервацию, а навпаки - відбувалося збільшення маси тіла експериментальних тварин не тільки в час використання ГГОБ, але і в віддалені терміни після припинення його використання. Розглядаються можливі механізми спостережуваних явищ.

Ключевые слова: гамма-гидроксибутират натрия, седалищный нерв, масса тела, денервация, сила мышц.

ANALYSIS OF BODY WEIGHT CHANGES IN EXPERIMENTAL RATS IN CONDITION OF SYSTEMIC INTRODUCTION OF GAMMA- HYDROXYBUTYRATE AFTER THE COMPRESSION OF THE SCIATIC NERVE

Rodinskii A.G., Demchenko T.V.

*Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Public Health of Ukraine, Dnipropetrovsk, Ukraine
E-mail: tatiana_mashko@mail.ru*

Gamma-hydroxybutyric acid (GHBA) is a close structural analog of gamma-aminobutyric acid (GABA). Unlike GABA, GHBA crosses the blood-brain barrier. The effects of GHBA are probably realized via a few mechanisms. First of all, this substance is an agonist of GABA_B receptors. Then, it can be converted into GABA. At the same time, GHBA can also act via a GABA-independent mechanism because its own receptors exist in the CNS. However, some mechanisms of action of GHBA remain little studied. In past GHBA salt - sodium hydroxybutyrate (NaGHB) was called gamma-oxybutyrate (GOB) in the pharmacological nomenclature used in USSR. NaGHB is used in clinics for general anesthesia, but GHB demonstrates also organoprotective and antihypoxic properties. Earlier, we found that systemic introduction of NaGHB into rats after trauma of one of the sciatic nerves (SN) accelerates the recovery of the force of voluntary muscle contractions at the injured side and increases this index in muscles of the contralateral intact limb. This is why we studied the effects of long-lasting systemic introduction of sodium gamma-hydroxybutyrate (NaGHB, 100 mg/kg, i.p., daily within 4 weeks) on body mass of experimental rats after denervation. In the control group, the nerve also was compressed, but NaGHB was not injected. Introduction of NaGHB provided absence of classical body mass decreasing - as a «denervation response». Introduction of NaGHB provided increases in body mass and force responses of the tested muscles start from the 2nd week of systemic introduction of gamma-hydroxybutyrate after the compression of the sciatic nerve. Possible mechanisms of the effect of NaGHB on the body mass and state of muscle apparatus of the limb after compression of a large nerve trunk resulting in the development of traumatic neuropathy are discussed. GHB manifests significant anabolic properties under conditions of chronic introduction. In this case, the body mass and the working ability of the muscles increase. These effects, at least partly, develop due to increased secretion of somatotrophic hormone (STH) induced by the action of GHBA. The above-mentioned hormone influences the genetic apparatus of the cells and provides

intensification of protein syntheses (due to activation of such a metabolic pathway as the pentose shunt). Probably, the rise in the force of muscle contractions under GHB influence can be due to intensification of synthesis of contractile proteins.

Keywords: sodium gamma-hydroxybutyrate, sciatic nerve, body mass, denervation, muscle force.

References

1. Waszkielewicz A., Bojarski J., Hydroxybutyric acid (GHB) and its chemical modifications: a review of the GHBergic system, *Pol. J. Pharmacol.*, **56**, 43 (2004).
2. Greiner C., Röhl J.E., Wassmann H., Different actions of gamma-hydroxybutyrate: a critical outlook, *Neurol. Res.*, **25**, 759 (2003).
3. Okovityy S.V., Clinical pharmacology of antihypoxic drugs, *FARMindeks-practices*, №7, 48 (2005).
4. Kovalenko A.P., Antidepressants in the rehabilitation of patients with diseases and traumas of PNS, *Psychiatric disorders in general medicine.*, №4, 1 (2008).
5. Krupina N.A. Simulation of dopamine deficiency-dependent depression state on a background development of pain syndrome in rats, *Pain*, №4, 11 (2006).
6. Short N.G., Nikolaevskiy V.A., Lesnikova I.N., Experimental research of local application of sodium oxybutyrate is in treatment of pain syndromes of person, *Theoretical and practical medicine.*, №1, 49 (2003).
7. Represa A., Ben-Ari Y. Trophic actions of GABA on neuronal development. *Trends Neurosci.*, № **28**, 278 (2005).
8. Rodinskii A.G., Serdyuchenko I. Ya., Demchenko T.V., Effects of systemic injections of gamma-hydroxybutyrate on the recovery of functions of the distal hindlimb muscles in rats after compression of the sciatic nerve, *Neurophysiology*, № **2**, 134 (2011).
9. Crunelli V., Emri Z., Leresche N., Unravelling the brain targets of γ -hydroxybutyric acid, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **6**, №1, 44 (2006).
10. Brattacharya I., Boje M.K., GHB carrier-mediated transport across blood-brain barrier, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **311**, № 1, 92 (2004).
11. Cauter E., Plat L., Scharf M., Simultaneous stimulation of slow wave sleep and growth hormone secretion by gamma-hydroxybutyrate in normal young men, *J. Clin. Invest.*, **100**, №3, 745 (1997).
12. Tkachenko V.P., Koldunov V.V., Influence of different types of denervation on the trophic of skeletal muscle, *Abstracts of I Ukrainian scientific morphological Conference (Dnepropetrovsk, 2004)*, p. 56.
13. Muller F.L., Song W., Jang Y.C., Denervation – induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **293**, № 3, 1159 (2007).
14. Khozhenko E.V. Complex diagnostics and therapy of neurological violations at posttraumatic disorders: abstract of a thesis. 14.01.11 "Nervous illnesses", Moscow, (2011), 33 p.
15. Kim T.-W., Lim H.-H., Song Y.-K. Effects of amygdalin on the functional recovery and c-Fos expression in the ventrolateral periaqueductal gray region after sciatic crushed nerve injury in rats, *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, **7**, №5, 556 (2008).
16. Kukushkin M.L. Neurogenic (neurological) pain, *Medicinal announcer*, №6, 61 (2006).
17. Danilova E.I., Grafova V.N., Ostrovskaya R.U., Action of sodium gamma-hydroxybutyrate at the pain symptoms, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, № 4, 395 (1996).
18. Manore M., Meeusen R., Roelands B. A–Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance, *Br. J. Sports Med.*, **45**, №1, 73 (2011).

Поступила в редакцію 16.04.2014 з.

УДК 502.171; 504.054; 631.618

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЦЕНКА ДЕСТРУКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, УТИЛИЗИРУЮЩИХ АКРИЛОВЫЕ ПОЛИМЕРЫ

Сипулинов Р.Б., Карагайчева Ю.В., Козулина Т.Н., Рогачева С.М., Отраднова М.И.

*Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., Саратов,
Российская Федерация
E-mail: smro13@land.ru*

Исследована деструктивная активность коллекционных культур и бактериальных штаммов, выделенных из контаминированного бурового раствора, в отношении полиакриламида и полиакрилата натрия. Определены наиболее перспективные культуры.

Ключевые слова: буровой раствор, полиакриламид, полиакрилат, микроорганизмы, деструктивная активность.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время на территории России происходит активное освоение нефтяных месторождений. Добыча и транспортировка нефти, а также хранение выбуренных шламов оказывают негативное влияние на окружающую среду, приводящее к изменению ландшафтов, деградации почв, загрязнению поверхностных и подземных вод [1, 2]. При бурении одной скважины образуется около 500-800 м³ отходов, 10% которых приходится на долю компонентов буровых растворов, содержащих полиакриламид и полиакриловую кислоту [3].

Таким образом, одной из проблем при восстановлении нарушенных и загрязненных шламами территорий является утилизация полимеров. Их деструкцию могут осуществлять различные микроорганизмы, в частности, бактерии из родов *Rhodococcus* и *Bacillus*, и микромицеты, например, представители из рода *Fusarium* [4, 5]. Хорошо известны штаммы-деструкторы акриламида и акриловой кислоты – исходных мономеров для получения акриловых полимеров, например, *Fusarium sp.* N56, *Bacillus subtilis* 1742Д, *Rhodococcus erythropolis* E84. [6, 7]. Всесторонне исследованы метаболические пути деструкции акриловой кислоты и ее производных [8, 9]. Но в доступной литературе ограничены сведения о путях деструкции акриловых полимеров и микробных штаммах, способных использовать эти полимеры в качестве единственного источника углерода и энергии.

Целью данной работы явилось выделение из образцов бурового раствора микроорганизмов и оценка их деструктивной активности в отношении акриловых полимеров, а также скрининг штаммов-деструкторов среди коллекционных культур.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- выделить из проб бурового раствора доминирующие группы микроорганизмов в чистую культуру;

- оценить способность коллекционных и вновь выделенных бактериальных штаммов к деградации акриловых полимеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследованы штаммы бактерий родов *Brevibacterium species 13ПА*, *Alcaligenes faecalis KSV-21*, *Pseudomonas alcaligenes бн*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes 5з*, *Rhodococcus rhodochrous М8*, *Arthrobacter species 1-СМ*, *Kurtia species 2-14* – деструкторы акриламида и акриловой кислоты. В качестве источника выделения микроорганизмов-деструкторов использовали буровой раствор на основе частично гидролизованного полиакриламида (ПАА) и полиакрилата натрия (ПАН), подвергшийся микробной контаминации.

Выделение изолятов из бурового раствора проводилось методом прямого высева на плотную питательную среду. Способность использовать ПАА в качестве единственного источника углерода и энергии определяли методом посева исследуемых культур на агаризованную среду М9, содержащую 1 г/л ПАА [10]. Культивирование осуществляли при температуре 28⁰С в течение 7 суток. Обильный рост культур на голодной среде с ПАА, свидетельствовал об их способности утилизировать данное соединение.

Для изучения процессов биодegradации мономеров и полимеров производили посев выделенных изолятов и коллекционных штаммов в жидкую модифицированную среду М9, содержащую исследуемые соединения. Акриламид (АА) и акриловую кислоту (АК) вносили в концентрации 2 г/л, ПАА – 1 г/л, модельный буровой раствор – 0,725 г/л. Буровой раствор готовили из расчета 10 г/л ПАА и 4,5 г/л ПАН. Культивирование проводили в течение 6 суток при температуре 28⁰С и постоянном перемешивании.

О степени биодegradации акриловых полимеров и мономеров судили по уменьшению их количества, а также косвенно по увеличению биомассы. Концентрацию АК и АА определяли на спектрофотометре UNICO 2800 (США) при $\lambda=255$ нм для АК, и $\lambda=260$ нм для АА, толщина оптического слоя составляла 10 мм.

Содержание ПАА определялось спектрофотометрическим методом (при $\lambda = 480$ нм), основанным на измерении оптической плотности окрашенного комплексного соединения, образованного акриловыми полимерами и спиртовым раствором дитизона по предварительно построенному калибровочному графику. Рост бактерий оценивали по величине оптической плотности клеточной суспензии, измеряемой на том же приборе при $\lambda = 540$ нм и толщине оптического слоя 10 мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований среди коллекционных культур проводился поиск микроорганизмов, способных к деструкции акриловых полимеров. Основанием для выбора вышеперечисленных бактериальных штаммов послужила их способность использовать в качестве единственного источника углерода и энергии различные поллютанты, в том числе, акриламид и акриловую кислоту [6, 7]. Для скрининга использовали агаризованную среду, не содержащую никаких других источников углерода и азота, кроме АА, АК или акриловых полимеров. После культивирования

штаммов в течение 7 суток отмечали наличие или отсутствие роста колоний на агаре. Из результатов исследований, представленных в табл. 1, видно, что большинство исследуемых коллекционных культур способны утилизировать АА и АК, и только три штамма разрушали ПАА. Максимальную деструктивную активность проявили культуры *Brevibacterium species 13ПА* и *Arthrobacter species 1-СМ*, которые были использованы для дальнейших исследований.

Таблица 1.
Деструктивная активность исследуемых микроорганизмов

Исследуемая культура	Деструктивная активность		
	АА	АК	ПАА
<i>Brevibacterium species 13ПА</i>	++	-	++
<i>Alcaligenes faecalis KSV-21</i>	++	-	±
<i>Pseudomonas alcaligenes 6n</i>	±	+	-
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes 5z</i>	±	+	-
<i>Rhodococcus rhodochrous M8</i>	±	-	-
<i>Arthrobacter species 1-СМ</i>	++	±	++
<i>Kurtia species 2-14</i>	+	+	-

Учитывая незначительную деструктивную активность коллекционных культур в отношении ПАА, был проведен скрининг природных штаммов-деструкторов. В качестве источника выделения микроорганизмов-деструкторов использовали контаминированный буровой раствор, из которого был выделен консорциум микроорганизмов, представленный штаммами-деструкторами и их природными бактериями-спутниками. Консорциум состоял из шести изолятов, которые в дальнейшем были выделены в чистую культуру (БР-1 – БР-6).

Деструктивную активность коллекционных штаммов и полученных изолятов в отношении ПАА определяли по уменьшению концентрации полимера в культуральной среде, результаты исследований представлена на рисунке 1а. Косвенным подтверждением способности выделенных культур использовать ПАА в качестве единственного источника углерода и энергии является наличие роста микроорганизмов на данной среде, что проявляется в увеличении оптической плотности культуральной жидкости (рис. 1б).

Из данных, представленных на рис. 1а и 1б, видно, что наибольшей деструктивной активностью в отношении ПАА обладают штаммы БР-1 и БР-4, о чем свидетельствует снижение концентрации ПАА в среднем на 35% и скорости роста культур более, чем в 2 раза. Активность штаммов БР-2 и БР-6 была значительно ниже – 23%, что согласуется с данными по увеличению в 1,5 раза плотности культуральной жидкости.

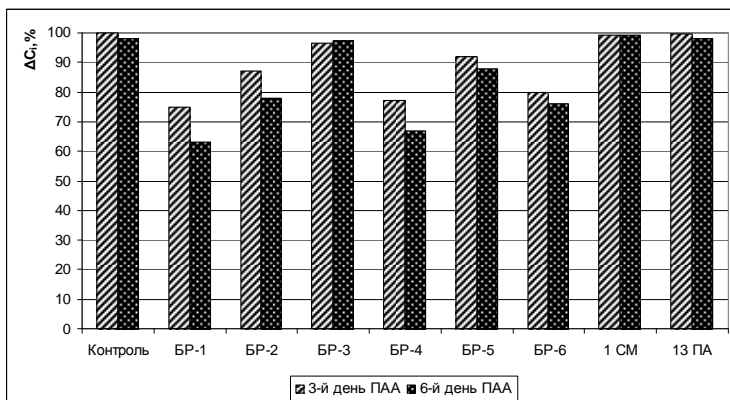


Рис. 1а. Относительное изменение концентрации ПАА в процессе его деструкции.

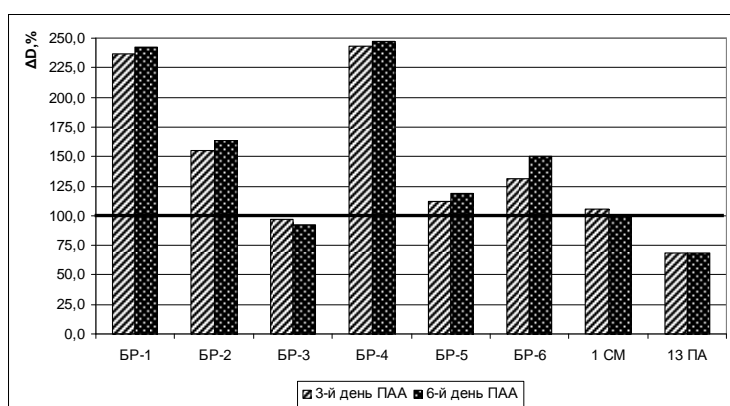


Рис. 1б. Относительное изменение оптической плотности культуральной жидкости в процессе деструкции ПАА.

Изучение деструктивной активности коллекционных культур и выделенных изолятов в отношении модельного бурового раствора подтвердило эффективность использования штаммов БР-1 и БР-4. Незначительную активность в отношении компонентов бурового раствора проявил коллекционный штамм 1-СМ, что объясняется способностью данной культуры утилизировать АК. Данные экспериментов представлены на рис. 2а и 2б.

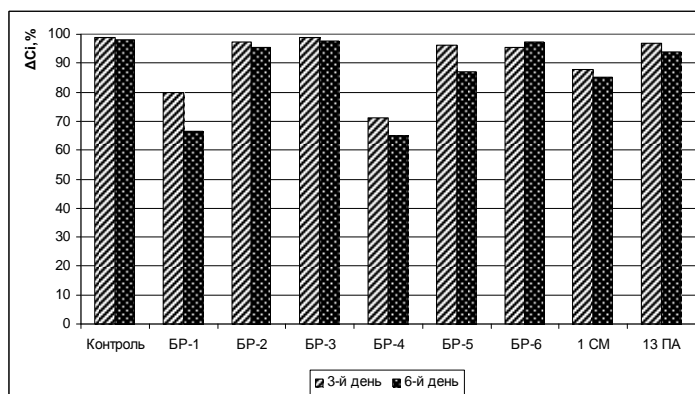


Рис. 2а. Относительное изменение концентрации компонентов бурового раствора в процессе их деструкции.

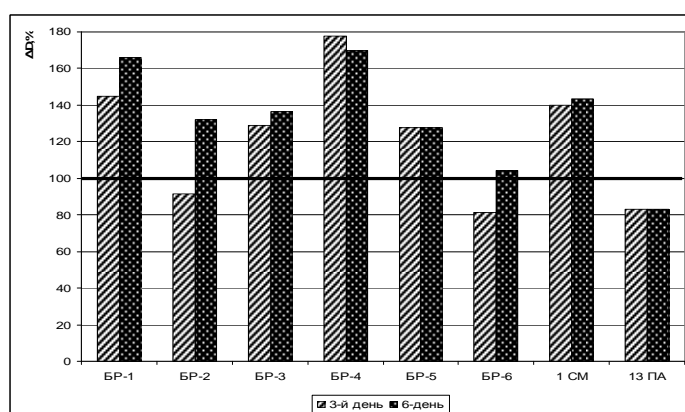


Рис. 2б. Относительное изменение оптической плотности культуральной жидкости в процессе деструкции компонентов бурового раствора.

Микроскопические исследования наиболее перспективных культур БР-1 и БР-4 показали, что штамм БР-1 представлен грамположительными мелкими коккобациллами, штамм БР-4 – грамположительными кокками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Коллекционные штаммы *Brevibacterium species 13ПА* и *Arthrobacter species 1-СМ*, вызывающие биodeградацию акриламида и акриловой кислоты, обладали сравнительно низкой деструктивной активностью в отношении гидролизованного полиакриламида.
2. Из загрязненного бурового раствора выделен консорциум микроорганизмов, представленный шестью изолятами, способными к разложению ПАА.
3. Среди изолятов из бурового раствора выявлено два перспективных штамма бактерий, с лабораторными шифрами БР-1 (грамположительные коккобактерии) и БР-4 (грамположительные кокки), использующие полиакриламид в качестве единственного источника углерода и энергии.

Список литературы

1. Мазлова Е.А. Проблемы утилизации нефтешламов и способы их переработки / Мазлова Е.А. – М.: Изд. дом «Ноосфера», 1997. – 128 с.
2. Бондалетова Л.И. Промышленная экология: учеб. пособие / Л.И. Бондалетова, В.Г. Бондалетов. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2008. – 247 с.
3. Мстиславская Л.П. Основы нефтегазового производства / Мстиславская Л.П., Павлинич М.Ф., Филиппов В.П. – М.: 1996. – 248 с.
4. Ягафарова Г.Г. Локальная очистка сточных вод производства акриловой кислоты и ее производных / Г.Г. Ягафарова, С.В. Леонтьева // Нефтегазовое дело. – 2005. – Т. 3. – С. 281-284.
5. Демаков В.А. Утилизация нитрилов и амидов штаммом *Rhodococcus erythropolis* E84 / В.А. Демаков, А.Ю. Максимов, М.В. Кузнецова, Г.В. Овечкина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. – 2008. – Вып 9 (25). – С. 48-52.
6. Wang C.C. Isolation of the acrylamide denitrifying bacteria from a wastewater treatment system manufactured with polyacrylonitrile fiber / C.C. Wang, C.M. Lee / Curr Microbiol. – 2007. – Vol.55. – №4. – P.339-343
7. Nawaz M.S. Influence of selected physical parameters on the biodegradation of acrylamide by immobilized cells of *Rhodococcus* sp./ M.S. Nawaz, S.M. Billedeau, C.E. Cerniglia // *Biodegradation*. – 1998. - Vol. 9. - № 5. - P.381-387.
8. Shanker P. Microbial degradation of acrylamide monomer / P. Shanker, C. Ramakrishna, P.K. Seth // Arch. Microbiol. - 1990. - Vol.154, № 2. - P. 192-198.
9. Andreoni V. Microbial degradation of acrylic acid / V. Andreoni, S. Bernaseoni, C. Sorlini, M. Villa // Ann. Microbiol. Ed. Enzimol. – 1990. – Vol. 40, № 2. – P. 279-286.
10. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / под ред. Н.С. Егорова. – М.: Издательство МГУ. – 1983. – 210 с.

Виділення і оцінка деструктивної активності мікроорганізмів, утилізуючих акрилові полімери / // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 150-156.

Досліджено деструктивна активність колекційних культур і бактеріальних штамів, виділених з контаминированного бурового розчину, щодо поліакриламід і поліакрилату натрію. Визначено найбільш перспективні культури.

Ключові слова: буровий розчин, поліакриламід, поліакрилат, мікроорганізми, деструктивна активність.

SCREENING AND EVALUATION OF THE DESTRUCTIVE ACTIVITY OF MICROORGANISMS, UTILIZING ACRYLIC POLYMERS

Sipulinov R.B., Karagaicheva Y.V, Kozulina T.N., Rogacheva S.M., Otradnova M.I.

Saratov State Technical University named after Gagarin Y.A., Saratov, Russia

E.mail: smro13@land.ru

Production and transportation of oil, as well as storage of oil sludge have a negative impact at the environment. During the drilling of one well about 500-800 m³ of waste is produced, 10 % of which are the components of drilling fluids containing polyacrylamide and polyacrylic acid. Thus, polymers utilization is one of the problems when restoring areas contaminated by the sludge. Their destruction may be carried out by bacteria and fungi.

The aim of this work was to select microorganisms from the samples of drilling fluid and evaluate their destructive activity towards acrylic polymers, as well as screening of strains-destructors among collection cultures.

Initially there was conducted the search for microorganisms capable to degrade acrylic polymers among the collection cultures - *Brevibacterium species 13ПА*, *Alcaligenes faecalis KSV-21*, *Pseudomonas alcaligenes 6н*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes 5з*, *Rhodococcus rhodochrous M8*, *Arthrobacter species 1-СМ*, *Kurtia species 2-14*. For this purpose the agar medium containing acrylamide, acrylic acid or acrylic polymers as the only source of carbon and nitrogen were used. After culturing the strains for 7 days there was noted the growth of colonies. It has been found out that the most of studied collection cultures can utilize acrylamide and acrylic acid, and only three strains can utilize polyacrylamide. The cultures *Brevibacterium species 13ПА* and *Arthrobacter species 1-СМ* have showed the maximal destructive activity.

The consortium of microorganisms was isolated from the contaminated drilling fluid, afterwards six isolates were obtained in pure culture (BR-1 - BR-6). The destructive activity of collection strains and isolates towards acrylic polymers was determined by the reduction of polyacrylamide concentration and by the microbial growth in culture medium. It has been found out that bacteria BR-1 and BR-4 possessed the most destructive activity, since there was observed the decrease of polymer concentration by nearly 35 % and more than 2-fold growth of the cultures.

The study of destructive activity of collection cultures and isolates towards model drilling fluid confirmed the effectiveness of the strains BR-1 and BR-4. *Arthrobacter species 1-СМ* showed small activity towards the components of drilling fluid, probably due to the ability of the given culture to utilize acrylic acid.

Microscopic studies showed that bacteria of the strain BR-1 are small Gram-positive cocco-bacilli, the cells of the strain BR-4 are Gram-positive cocci.

The obtained results allow us to consider the selected bacterial strains promising targets for further experimental studies.

Keywords: drilling fluid, polyacrylamide, polyacrylic acid, microorganisms, destructive activity.

References

1. Mazlova E.A., Problems of utilization of oil sludge and ways of their processing, 128 p. («Noosfera», Moscow, 1997).
2. Bondaletova L.I., Bondaletov V.G., Industrial ecology, 247 p. (Tomsk, 2008).
3. Mstislavskaya L.P., Pavlinich M.F., Fillipov V.P., Fundamentals of oil production, 248 p. (Moscow, 1996).
4. Yagafarova G.G., Leont'eva S.V., Local treatment of wastewater of acrylic acid and its derivatives production, Oil and gas production, **3**, 281 (2005).
5. Demakov V.A., Maksimov A.Y., Kuznetsova M.V., Ovechkina G.V., Nitriles and amides utilization by *Rhodococcus erythropolis* E84, Perm University Herald, Ser. Biology, **9**, **25**, 48 (2008).
6. Wang C.C., Lee C.M., Isolation of the acrylamide denitrifying bacteria from a wastewater treatment system manufactured with polyacrylonitrile fiber, Curr. Microbiol., **55**, **4**, 339 (2007).
7. Nawaz M.S., Billedeau S.M., Cerniglia C.E., Influence of selected physical parameters on the biodegradation of acrylamide by immobilized cells of *Rhodococcus* sp., Biodegradation., **9**, **5**, 381 (1998).
8. Shanker P., Ramakrishna C., Seth P.K., Microbial degradation of acrylamide monomer, Arch. Microbiol., **154**, **2**, 192 (1990).
9. Andreoni V., Bernaseoni S., Sorlini C., Villa M., Microbial degradation of acrylic acid, Ann. Microbiol. Ed. Enzimol., **40**, **2**, 279 (1990).
10. Egorova N.S., Manual for practical training in microbiology, 210 p. (Moscow, 1983).

Поступила в редакцию 10.05.2014 г.

УДК 582.548.25: 57.085.23

ИЗУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ЗАРОДЫШЕЙ И СЕМЯН КАННЫ САДОВОЙ (*CANNA* × *HYBRIDA HORT.*) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Тевфик А.Ш., Митрофанова И.В.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, Ялта
E-mail: in_vitro@ukr.net

Получена асептическая культура семян четырех сортов канны садовой (*Canna* × *hybrida hort.*). Изучены особенности прорастания семян и формирования сеянцев в условиях *in vitro*. Показано возможность образования каллуса и эмбриоподобных структур. С помощью метода эмбриокультуры *in vitro* получены жизнеспособные растения канны садовой сорта Дар Востока.

Ключевые слова: канна, эмбриокультура, *in vitro*.

ВВЕДЕНИЕ

В оформлении садов и парков Южного берега Крыма заслуженное место занимает канна садовая (*Canna* × *hybrida hort.*). Эта культура имеет продолжительное цветение, яркие цветки и соцветия разнообразных форм и окрасок. Канна садовая хорошо переносит пониженную влажность воздуха и практически не повреждается вредителями. Однако имеются литературные данные о поражаемости растений грибными, бактериальными и особенно вирусными болезнями [1].

Изучение некоторыми учеными биологии прорастания семян канны садовой показало, что в обычных условиях этот процесс занимает от одного до двух лет [1, 2]. Применение культуры *in vitro* позволяет значительно сократить сроки получения оздоровленного посадочного материала ценных сортов *Canna* × *hybrida*, а также ускорить создание новых форм.

Цель нашей работы состояла в том, чтобы выявить морфогенетический потенциал зародышей и семян перспективных сортов канны садовой в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами настоящего исследования служили перспективные сорта канны из коллекционных насаждений НБС – ННЦ: 2 сорта селекции НБС (Дар Востока, Ливадия) и 2 сорта зарубежной селекции (Президент, Суевия).

Исследования проводили в лаборатории биохимии, биотехнологии и вирусологии растений НБС-ННЦ. В работе использовали методы культуры органов

и тканей, общепринятые [3] и разработанные в отделе биотехнологии растений НБС-ННЦ [4].

Коробочки канны садовой, отобранные в сентябре, обрабатывали 96% этанолом, обжигали в пламени спиртовки, после чего извлекали семена. Изолированные зародыши помещали на агаризованную среду Монье [5] без регуляторов роста. Недоразвитые семена помещали на питательную среду Мурасиге Скуга [6] с добавлением различных концентраций регуляторов роста: RG1 – MS + 1,5 мг/ л БАП +1,5 мг/ л ИУК; RG2 – MS + 2 мг/ л БАП +1,75 мг/ л ИУК; RG3 – MS + 2 мг/ л БАП +2 мг/ л ИУК; RG4 – MS + 1,3 мг/л ТДЗ. Пробирки с семенами переносили в культуральную комнату с температурой $24\pm 1^\circ\text{C}$, 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2000-3000 лк. Изолированные зародыши стратифицировали в условиях пониженной температуры (без освещения при температуре $5\pm 1^\circ\text{C}$). Проростки и растения мы культивировали при стандартных условиях выращивания *in vitro*.

Обработку результатов экспериментов проводили при помощи методов статистического анализа [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований было выявлено, что используемый нами способ стерилизации позволил получить у сортов Ливадия и Суевия экспланты, свободные от контаминации. При этом, у сортов канны садовой Дар Востока и Президент частота контаминации составила 5 и 14% соответственно.

Для индукции различных путей морфогенеза нами использованы в качестве первичных эксплантов недозрелые семена. В наших опытах жизнеспособность культивируемых эксплантов зависела от состава питательной среды и от продолжительности культивирования (табл. 1).

Таблица 1
Жизнеспособность недозрелых семян в зависимости от содержания регуляторов роста в питательной среде (%)

Сорт	RG1 (MS + 1,5 мг/ л БАП +1,5 мг/ л ИУК)		RG2 (MS + 2 мг/ л БАП +1,75 мг/ л ИУК)		RG3 (MS + 2 мг/ л БАП +2 мг/ л ИУК)		RG4 (MS + 1,3 мг/л ТДЗ)	
	на 7-е сут	на 21-е сут	на 7-е сут	на 21-е сут	на 7-е сут	на 21-е сут	на 7-е сут	на 21-е сут
	Дар Востока	60	17	57	43	73	43	100
Ливадия	100	42	75	53	75	64	67	27
Президент	73	17	100	0	63	20	43	7
Суевия	30,8	14,3	56	25	50	0	40	0

Для поддержания жизнеспособности эксплантов сорта Дар Востока на 21-е сутки культивирования оптимальной оказалась питательная среда RG4. При этом, на данной среде отмечали появление набухших семян у 63,6% жизнеспособных незрелых семян.

У сорта канны садовой Ливадия (рис. 1а) спустя 3 недели культивирования *in vitro* больше всего жизнеспособных эксплантов (53-64%) было получено на питательной среде MS + 1,5 мг/л БАП + 1,5-1,75 мг/л ИУК. Вместе с тем, количество набухших семян достигало 81,8% и 64,7% на средах RG2 и RG3, соответственно.

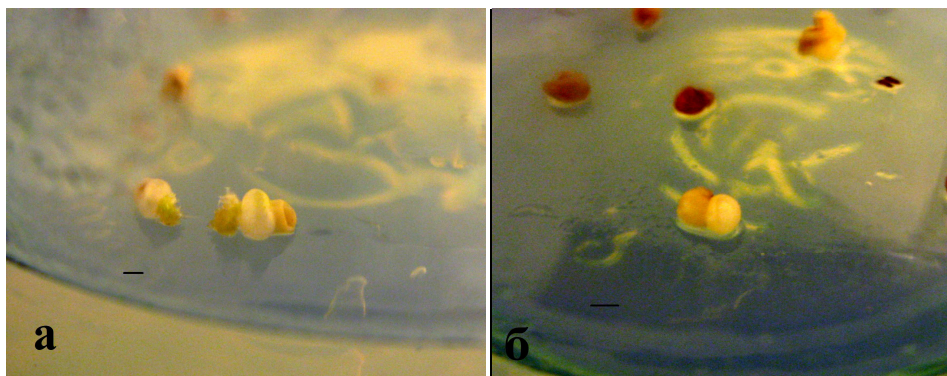


Рис. 1. Недозрелые семена на 15 сут культивирования на питательной среде RG3: а) сорта Ливадия; б) сорта Президент (масштаб 1мм)

Наряду с этим, у сортов Президент и Суевия на 21-е сутки культивирования отмечена низкая жизнеспособность эксплантов на всех использованных питательных средах. На среде RG3 у сорта Президент (рис. 1б) удалось получить 60% набухших семян.

Вместе с тем для индукции прорастания семян нами в качестве эксплантов были использованы зрелые семена. Выявлено, что на 60 сут культивирования после стратификации жизнеспособность эксплантов составила 100%. Однако в дальнейшем наблюдали потемнение и постепенную их гибель. Возможно это связано с тем, что семена канны садовой имеют склерифицированную семенную кожуру, препятствующую прорастанию зиготического зародыша [1, 2]. В связи с трудностью прорастания семян, нами был использован метод эмбриокультуры.

Большинство сортов канны садовой формируют недоразвитые зародыши. Культивирование *in vitro* изолированных зародышей позволяет получить полноценные растения. Для индукции прорастания зародышей их стратифицировали в условиях *in vitro* при пониженной температуре ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) и отсутствии освещения на питательной среде Монье.

Отмечено, что у изолированных из семени зародышей сорта Дар Востока на 8-е сутки культивирования происходило разрастание тканей. На 14-е сутки культивирования длина и толщина зародыша увеличились на 0,5 и 0,36 см,

соответственно (табл. 2). Однако, при последующем культивировании ткани зародыша разрастались менее интенсивно (0,16 и 0,08 см).

Таблица 2
Разрастание тканей изолированных зародышей сорта Дар Востока
в зависимости от продолжительности культивирования

Характеристика зародыша	Исходный размер	Увеличение размера, см		
		на 14-е сутки культивирования	на 25-е сутки культивирования	на 35-е сутки культивирования
Длина, см	0,58±0,08	0,5±0,03	0,16±0,05	0,16±0,04
Ширина, см	0,22±0,04	0,36±0,08	0,08±0,04	0,1±0,05

В процессе исследования на поверхности отдельных зародышей формировался каллус двух типов: плотный и рыхлый (рис. 2а). Наряду с этим, у некоторых изолированных зародышей на 21-е сут культивирования развивались корни (1-4 шт./эксплант). Частота корнеобразования достигала 25%. На 50-е сутки культивирования средняя длина корней составила 0,73±0,06 см (рис. 2б).

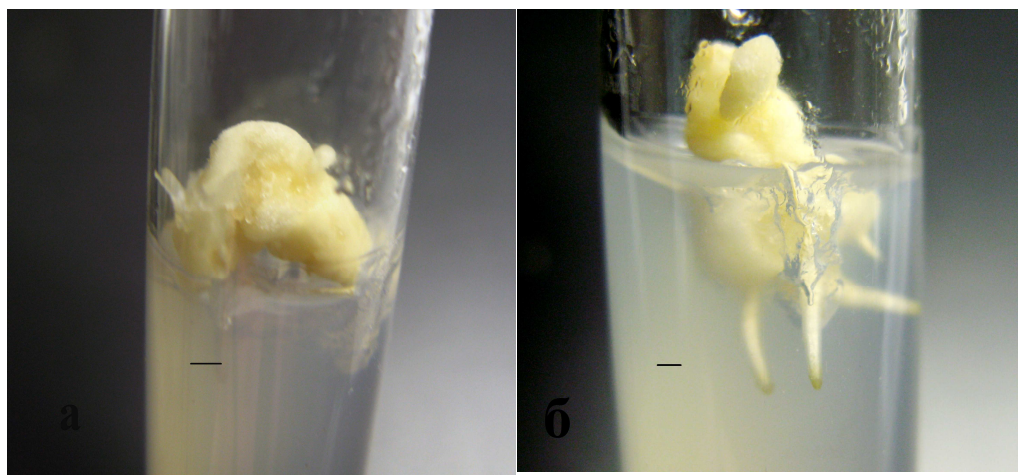


Рис. 2. Зародыши канны садовой сорта Дар Востока на 30-е сутки культивирования: а) формирование плотного и рыхлого каллуса на поверхности экспланта; б) развитие корней у зародыша (масштаб 1мм)

Через 60 суток культивирования при $5\pm 1^\circ\text{C}$, в темноте изолированные зародыши с развившимися корнями переносили в стандартные условия с температурой $24\pm 1^\circ\text{C}$, 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2000-3000 лк. В условиях освещения на 2-е сутки культивирования экспланты изменили свою окраску с светло-бежевой на зеленую. При этом, на 6-8 сутки культивирования в культуральной комнате у зародышей наблюдали появление

первого листа (рис. 3). На 10-е сутки культивирования длина листа составила $2,5 \pm 0,61$ см.

Наряду с этим, у развившихся из зародышей проростков и растений в стандартных условиях культивирования наблюдали увеличение количества и длины корней. Так, у некоторых эксплантов на 10-е сутки культивирования количество корней на эксплант увеличилось до $8,2 \pm 1,78$ шт. Длина корней на данный срок культивирования составила $2,04 \pm 0,23$ см (табл. 3).

Таблица 3

Морфологические признаки проростков, полученных из изолированных зародышей сорта Дар Востока при культивировании *in vitro*

Морфологические признаки	Культивирование в условиях стратификации (60 сут)	Срок культивирования в стандартных условиях	
		10-е сут	35-е сут
Среднее количество корней, шт.	$2,57 \pm 0,52$	$8,2 \pm 1,78$	$11,33 \pm 0,41$
Средняя длина корней, см	$0,45 \pm 0,09$	$2,04 \pm 0,23$	$3,8 \pm 0,14$
Среднее количество листьев, шт.	–	$1,2 \pm 0,22$	$2,5 \pm 0,33$
Средняя длина листьев, см	–	$2,5 \pm 0,61$	$8,75 \pm 0,37$

Проведенные исследования показали, что после стратификации на 35-е сут культивирования в стандартных условиях развились полноценные проростки сорта Дар Востока [8, 9]. При этом, они имели хорошо развитые корни (11 шт./эксплант) и 2-3 развернувшихся листа.

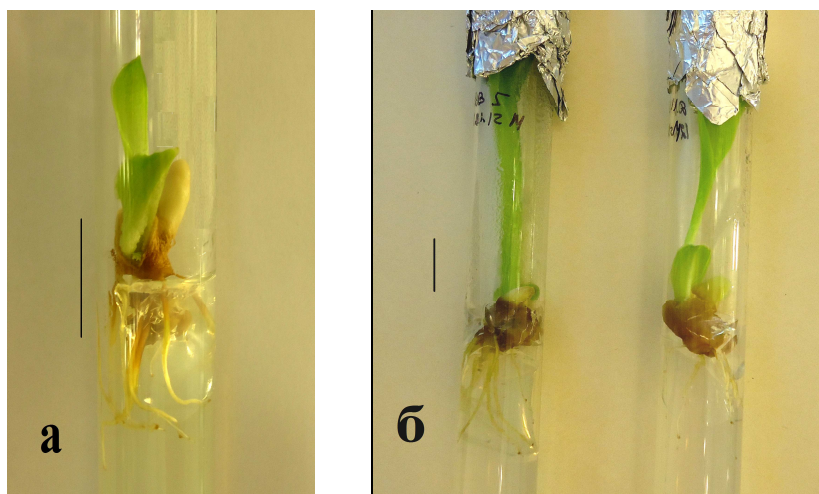


Рис. 3. Появление первого листа у зародышей канны садовой сорта Дар Востока при культивировании в стандартных условиях: а) 6-8 сутки; б) 15-е сутки (масштаб 1 см)

При культивировании зародыша сорта Ливадия на 30-е сутки культивирования отмечали формирование глобулярных структур. При последующем культивировании отметили увеличение их количества и размеров (рис. 4).

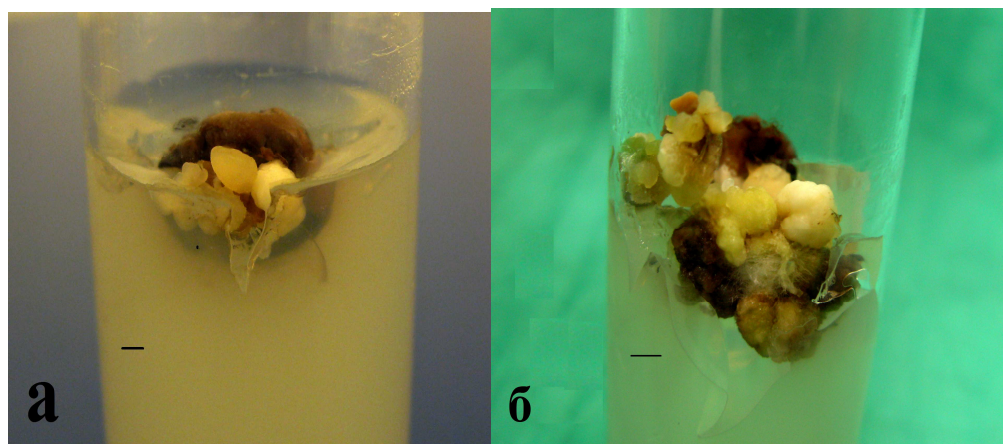


Рис. 4. Глобулярные и эмбриоподобные структуры у сорта Ливадия:
а) на 36-е сутки культивирования;
б) на 50-е сутки культивирования (масштаб 1мм)

Наряду с этим, жизнеспособные разросшиеся части каллуса и глобулярные структуры, сформировавшиеся из изолированного зародыша сорта канны Ливадия, изменили окраску с белой на светло-зеленую. Однако, при более длительном культивировании наблюдали потемнение и постепенное отмирание глобулярных структур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, после стратификации и культивирования в стандартных условиях происходило развитие полноценных проростков у сорта Дар Востока от свободного опыления. Полученные проростки могут представлять интерес для селекционной работы. Показаны возможности каллусообразования у зародышей сорта Ливадия.

Список литературы

1. Дашкеев Е.А. Канны в Молдавии. / Дашкеев Е.А. – Кишинев: «Штица». – 1975. – 65 с.
2. Ерушкевич С.В. Культура канн в Чуйской долине./ Ерушкевич С.В. – Фрунзе: Илим, 1983. – 49 с.
3. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. / Бутенко Р.Г. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
4. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур / Митрофанова И.В. – К.: «Аграрна наука», 2011. – 344 с.
5. Monnier M. Croissance et developpement des embryons globulaires de *Capsella bursa-pastories* cultives *in vitro* dans du milieu a base d'une nouvelle solution minerale / M. Monnier // Bull. Soc. Bot. France Memories, Coll. Morphologie. – 1973. – P. 179-194.
6. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog //Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, №3. – P. 473-497.

7. Лакин Г.В. Биометрия. / Лакин Г.В. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
8. Тевфик А.Ш. Пути реализации морфогенетического потенциала различных эксплантов канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) в условиях *in vitro* / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова // Цветоводство: традиции и современность: материалы VI Международной научной конференции, 15 – 18 мая 2013 г., Волгоград. – Белгород: НИУ «БелГУ», 2013. – С. 414-416.
9. Тевфик А.Ш. Введение в культуру *in vitro* изолированных зародышей и семян канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова, О.В. Митрофанова, Лесникова-Н.П. Седошенко // Клеточная биология и биотехнология растений: тез. докл. Международной научно-практической конференции. 13-15 февраля 2013 г., Минск, Беларусь. – Минск : Изд. Центр БГУ, 2013. – С. 198.

Тевфік А.Ш. Вивчення регенераційної здатності зародків та насінин канни садивної (*Canna × hybrida hort.*) в умовах *in vitro* / А.Ш. Тевфік, І.В. Митрофанова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 157-164.

Отримана асептична культура насіння чотирьох сортів канни садивної (*Canna × hybrida hort.*). Вивчені особливості проростання насінин та формування сіянців в умовах *in vitro*. Показана можливість утворення калуса та ембріоподібних структур. За допомогою метода ембріокультури *in vitro* отримані життєздатні рослини канни садивної сорту Дар Востока.

Ключові слова: канна, ембріокультура, *in vitro*.

THE INVESTIGATION OF REGENERATION ABILITY OF CANNA (*CANNA × HYBRIDA HORT.*) EMBRYOS AND SEEDS *IN VITRO*

Tevfik A.Sh., Mitrofanova I.V.

Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Centre, Yalta
E.mail: in_vitro@ukr.net

Peculiarities of immature, mature seeds and isolated embryos development in four cultivars (Suevia, Livadia, Dar Vostoka and President) of *Canna (Canna × hybrida hort.)* have been studied. The seed vessels of canna were worked up by 96% ethanol, burned by the flame of spiritlamp and then seeds were recovered. The results of our research have been demonstrated, that using sterilization method was allowed to obtain of explants of cvs. Livadia and Suevia without any contamination. By the way, the rate of contamination of explants Dar Vostoka and President make up 5 and 14%, respectively. Isolated embryos were inoculated into Monnier basal medium. Immature seeds were placed on modified Murashige and Skoog medium, supplemented with different concentration of growth regulators: 1.75-2 mg/l IAA + 2 mg/l BAP; 1.5 mg/l NAA + 1.5 mg/l BAP; 1.3 mg/l TDZ. The stratification of isolated embryos was doing under low positive temperature (without light, 5°C). Our research was showed that the culture *in vitro* of immature seeds after 15-60 days was led its darkening and gradual death. For maintenance of viability of cv. Dar Vostoka explants (immature seeds) after 21 day of culture the optimal culture medium was MS with 1.3 mg/l TDZ. After 3 weeks of culture in cv. Livadia more viable explants (53-64%) have been obtained on the medium MS with 1.5 mg/l BAP and 1.5-1.75 mg/l IAA. Immature seeds of cvs. President and Suevia after 21 days of culture the low viability have been showed. On 60 days of culture under standard conditions after stratification 100%

viability of explants (mature seeds) has been identified. Later, however, observed its darkening and gradual death. Perhaps it was depending on the fact that seeds of *Canna* have very hard rind, which prevent germination of zygotic embryo. Due to the difficulty of seed germination, the method of embryoculture has been used. It was noted that isolated from the seed embryos cv. Dar Vostoka on the 8th day of culture characterized by tissue growth. During investigation two type of callus (dense and loose callus) on the embryo has been formed. Along with this, some isolated embryos at the 21th day of culture developed roots (1-4 pcs. / explant). After 60 days of stratification isolated embryos were incubated in the growth room at $24\pm 1^\circ\text{C}$ under a 16 hour photoperiod and at light intensity of 2000-3000 lux. Under light conditions within 2 days of culture at standard condition the explants were changed color from light beige to green. Within 6-8 days in the growth room the cultured embryos first leaf have been occurred. Alongside with, on the developed seedlings and plants from zygotic embryos the increasing of number and length of roots has been fixed. Within 30 days of culture of isolated embryos in cv. Livadia formed globular-like structures. However, if longtime culture was used the progressive darkening and dieback of globular structures have been observed. The investigation was shown, that after stratification on the 35 days of culture in the standard conditions the normal *Canna* seedlings in cv. Dar Vostoka have been developed. Thus, this seedlings had well-developed 11 roots per explants and 2-3 leaves. Obtained seedlings could be interested to use for breeding.

Keywords: canna, embryoculture, *in vitro*.

References

1. Dashkeev E.A., *Canna in Moldova*, 65 p. (Kishinev: Shtiitsa, 1975).
2. Erushkevich S.V., *Culture Cannes in the Chu Valley*, 49 p. (Frunze: Ilim 1983).
3. Butenko R.G., *Culture of isolated tissues and physiology of plants morphogenesis*, 272 p. (M.: Nauka., 1964).
4. Mitrofanova I.V., *Somatic embryogenesis and organogenesis as a base of biotechnology of obtaining and conservation perennial horticultural plants*, 344 p. (K.: Agrarna nauka, 2011).
5. Murashige T., Skoog F., A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, **15**, 3, 473 (1962).
6. Monnier M., Croissance et developpement des embryons globulaires de *Capsella bursa-pastories* cultives *in vitro* dans du milieu a base d'une nouvelle solution minerale, *Bull. Soc. Bot. France Memories, Coll. Morphologie*, 179 (1973).
7. Lakin G.F., *Biometrics: a textbook for universities biological specialties*, 352 p. (M, Vysshaya shkola, 1990).
8. Tefvik A.Sh., Mitrofanova I.V. The morphogenetic potential realization ways of different explants Of *Canna* garden *in vitro* (*Canna* × *hybrida hort.*), *Abstract of VI International Scientific Conference "Floriculture: tradition and modernity"* (Belgrade, NIU "BSU", Volgograd, 2013), p. 414.
9. Tefvik A.Sh., Mitrofanova I.V., The introduction in culture *in vitro* of izolated emryos and seeds of *Canna* garden (*Canna* × *hybrida hort.*), Tefvik A.Sh., Mitrofanova I.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., *Abstracts of International scientific and practical conference "Cell Biology and Biotechnology"* (Izd. BSU Center, Minsk, 2013), p. 198.

Поступила в редакцию 05.05.2014 г.

УДК 577.3:57.086.8

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ КОНТАМИНАЦИИ МИКРОФЛОРОЙ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ

Хмель Н.В.

*Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины, Харьков, Украина
E-mail: dreval@ire.kharkov.ua*

Проведено исследование диэлектрической проницаемости и поверхностного натяжения смазочно-охлаждающих жидкостей при лазерной экспозиции свежеприготовленных и отработанных образцов. Применение частот акустического диапазона ($f = 1000 \div 2000$ Гц) позволило регистрировать отличия в электромагнитном отклике микрофлоры контрольных и опытных образцов отработанной СОЖ. Увеличение количества свободной воды в системе СОЖ-микрофлора делает возможным применения лазерного излучения терагерцового диапазона в металлообрабатывающей промышленности для санации СОЖ в процессе её эксплуатации.

Ключевые слова: лазерное излучение терагерцового диапазона, диэлектрическая проницаемость, поверхностное натяжение, СОЖ, микрофлора.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема борьбы с биологическим заражением смазочно-охлаждающих жидкостей (СОЖ) актуальна и связана со сроками их эксплуатации. В мировой металлообрабатывающей промышленности интенсивно проводятся мероприятия по минимизации затрат на СОЖ, увеличивая сроки её службы путем применения различных технологических приёмов, включающих регенерацию компонентов СОЖ, а также разработку современных установок санации.

Основной из многих эксплуатационных проблем, непосредственно связанных с качеством СОЖ, является повышение эколого-токсикологической опасности, связанной с быстрым биопоражением жидкости, характеризующимся изменением в балансе физико-химических и биологических параметров жидкости. Это является одной из основных причин алерго-дерматологического раздражения кожных покровов, при этом условия в рабочей зоне несовместимы с нормами безопасности персонала.

Среди многочисленных методов воздействия на микрофлору СОЖ выделяют гравитационно-флотационные, основанные на использовании установок, оснащенных озонаторными устройствами для выработки озono-воздушной смеси из атмосферы окружающего воздуха для обеззараживания от бактерий. Магнитные методы основаны на разделении веществ по их магнитным свойствам. Одновременно в магнитном аппарате с импульсным магнитным полем низкочастотного диапазона ($f = 2 \div 30$ Гц) производится очистка от бактериальной флоры, физический смысл которой связан с существованием так называемых

«частотно-амплитудных окон», внутри которых проявляются реакции биообъектов, а вне их – отсутствует. При этом бактерицидное действие магнитного поля зависит от частоты следования и формы импульсов, напряженности и градиента напряженности магнитного поля, времени обработки, а также резистентности микроорганизмов [1]. Метод аэрации обрабатываемой жидкости, основанный на насыщении СОЖ пузырьками воздуха, находит менее активное применение, так как с его помощью подавляется жизнедеятельность только анаэробных микроорганизмов, не затрагивая рост и развитие аэробных бактерий, грибов и микроводорослей. Показана возможность применения природной сине-зеленой глины, как активированной загрузки фильтров для очистки СОЖ, позволяющей продлить сроки эксплуатации СОЖ в технологических линиях металлообработки, но данный метод требует дополнительных исследований [2].

Неоднозначно также применение биоприсадок и биоцидных добавок, которые, с одной стороны, оказывают бактерицидное действие на микрофлору, а, с другой стороны, дезорганизуют структуру самой обрабатываемой жидкости, ухудшая при этом органические показатели СОЖ. Так, в аспекте оценки поверхностного натяжения СОЖ, являющегося одним из основных параметров, определяющих диспергируемость и стабильность эмульсионной металлообрабатываемой жидкости, рассмотрены композиции присадок с различными производными органических кислот [3]. Теоретические расчеты краевого угла смачивания, силы адгезии и др. параметров СОЖ показали возможность создания системы СОЖ обладающей высокой стабильностью при длительном хранении, антикоррозионными, бактерицидными, смачивающими и другими полезными свойствами; при этом многие практические вопросы остались открытыми.

Электромагнитное излучение *КВЧ*-диапазона радиоволн используется для оценки биологического заражения СОЖ по анализу диэлектрической проницаемости (ϵ') металлообрабатывающих жидкостей [4]; при этом на частотах дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды ($f = 37,7$ ГГц) наблюдались наиболее выраженные изменения ϵ' в реакциях взаимодействия СОЖ-биообъект. Терагерцовое излучение дальнего инфракрасного диапазона может иметь свои преимущества в решении проблемы контаминации СОЖ, связанные с его энергетическими характеристиками. Так, энергия излучения, исходящая от газового *HCN*-лазера ($f = 0,7 \div 20$ ТГц), приближается к энергии водородных связей рецепторных комплексов мембраны клетки. Известно, что энергия водородной связи в белковых комплексах находится в пределах $h\nu = 0,9 \times 10^{-2} \div 8,7 \times 10^{-2}$ эВ, энергия кванта излучения *HCN*-лазера на длине волны $\lambda = 0,3 \div 0,03$ мм составляет $h\nu = 0,39 \times 10^{-2} \div 3,9 \times 10^{-2}$ эВ [5].

Поэтому целью исследования является изучение воздействия терагерцового излучения на микрофлору СОЖ для увеличения периода рабочего цикла обрабатываемой жидкости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала исследования использовались свежеприготовленные и отработанные образцы СОЖ типа «Тепол», физико-химические и биологические характеристики которой приведены в экспериментальной части работы [4].

Оценивались поверхностное натяжение и диэлектрическая проницаемость контаминирующую СОЖ микрофлоры в контрольных (необлученных) и опытных (облученных) образцах. Облучение образцов проводилось терагерцовым цианистоводородным *HCN*-лазером, экспозиция длилась $t = 60$ мин., частота излучения составила $f = 0,89$ ТГц при мощности излучения $P = 8$ мВт. При анализе поверхностного натяжения жидкости контрольных и опытных образцов использовалась акустическая модуляция в «sweeper»-режиме открытой пьезо-кюветы ($V_{\text{кюветы}} = 308$ мкл), расположенной на выходе волноводного 8-мм измерительного тракта (рис. 1); частота модуляции пьезо-кюветы задавалась в диапазоне $f = 1000 \div 2000$ Гц. Калибровка при определении поверхностного натяжения осуществлялась с помощью водно-спиртовых растворов разных концентраций с учетом температурного коэффициента.

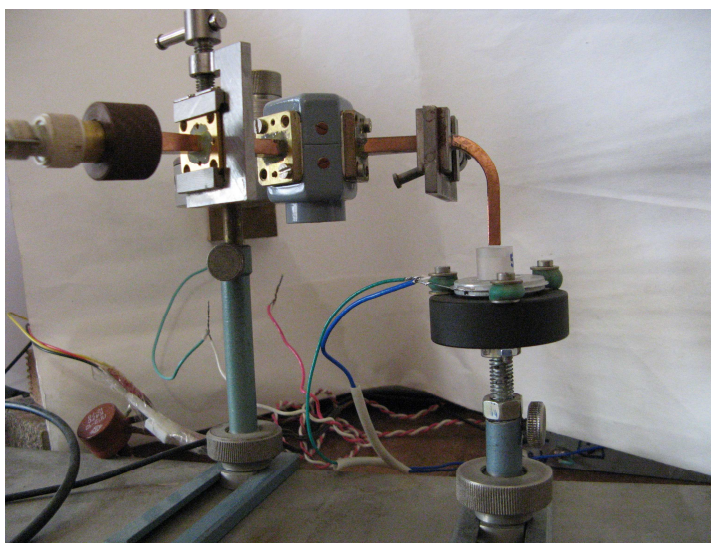


Рис. 1. Узел аппаратурно-регистрающего комплекса с открытой пьезо-кюветой, расположенной на выходе 8-мм измерительного тракта.

Одновременно с воздействием акустических частот проводился анализ изменения гидратации живых компонентов СОЖ в контрольных и опытных образцах на частоте $f = 37,7$ ГГц по относительным изменениям количества свободной и связанной воды с помощью аппаратурно-регистрающего комплекса [6]. Точность относительных измерений по ϵ' составила $\Delta = \pm 0,5$ %; абсолютных $\pm 3,5$ %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе обработки экспериментальных данных были получены значения реальной части комплексной диэлектрической проницаемости СОЖ, а также поверхностного натяжения жидкости в контрольных и опытных образцах (табл. 1).

Таблица 1

Диэлектрическая проницаемость (ϵ') и поверхностное натяжение (σ) СОЖ в опытных и контрольных образцах ($t = 20^\circ\text{C}$)

Параметры	Свежеприготовленная СОЖ		Отработанная СОЖ	
	контроль	опыт	контроль	опыт
ϵ'	21,2	19,5	17,0	18,5
σ , дн/см	63,5	57,0	49,0	53,5

Диэлектрическая проницаемость на частотах дисперсии свободной воды ($f = 7$ ГГц \div 50 ГГц) является параметром, который определяет интегральный уровень гидратации биологической системы. Биологическое загрязнение СОЖ, в основном, определяется аэробными и анаэробными бактериями, а также микроводорослями, вызывающими необратимое изменение физико-химических свойств металлообрабатывающей эмульсии [7]. Исходя из этого, регистрация изменения параметра ϵ' , в целом, является информативным параметром состояния гидратации микрофлоры, который может служить маркером биологического загрязнения системы СОЖ. Согласно данным таблицы 1, существенной разницы в параметрах гидратации контрольных и опытных образцов свежеприготовленной СОЖ не наблюдалось. Эффект чувствительности микрофлоры был отмечен при экспозиции отработанной СОЖ под источником терагерцового излучения. При этом по данным КВЧ-диэлектromетрии наблюдалось увеличение параметра ϵ' , что является следствием увеличения количества свободной воды в системе СОЖ-микрофлора.

Режим акустической модуляции пьезо-кюветы в «sweep»-режиме частот $f = 1000 \div 2000$ Гц создает условия существования внутренних гидродинамических роторов капиллярной природы, позволяющих исследовать поверхностное натяжение именно СОЖ в рабочем состоянии, в отличие от статического режима, когда наблюдается расслоение раствора СОЖ. Поверхностное натяжение определяется, в нашем случае, интегралом в диапазоне акустических частот $f = 900 \div 2100$ Гц при воздействии акустических волн на СОЖ. При сравнении контрольных и опытных образцов отработанной СОЖ отмечалось увеличение электромагнитного отклика (при частотном анализе быстрого Фурье-преобразования) в средней части акустического воздействия ($f = 1500 \div 1700$ Гц). Это обусловлено появлением в отработанной СОЖ среднеразмерных «кластеров», отвечающих, в конечном итоге, за интегральное увеличение значения ϵ' . Терагерцовое излучение, возможно, способствовало угнетению жизнедеятельности микрофлоры СОЖ и частичному восстановлению изначальных гидратационных параметров металлообрабатывающей жидкости.

На рисунке 2 показаны сдвиги хода электромагнитного отклика отработанной облученной СОЖ от такового необлученной.

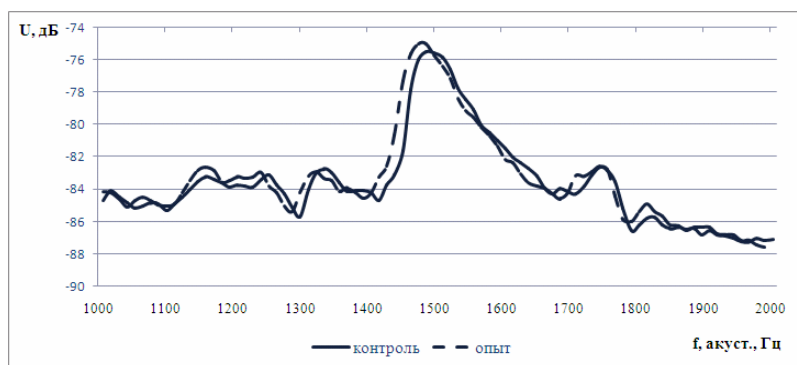


Рис. 2. Электромагнитный отклик (U) контаминирующей СОЖ микрофлоры в зависимости от частоты модуляции акустических волн в контрольных и опытных образцах отработанной СОЖ

Из рисунка видно, что в минимумах стоячих волн, и в максимумах бегущих волн наблюдали изменение электромагнитного сигнала микрофлоры облученных образцов СОЖ, которое в некоторых точках достигало отличия в ~10 Гц со стабильным сдвигом в низкочастотную акустическую область. Регистрация таких повторяющихся изменений сигнала, в экспериментально определенном акустическом диапазоне частот, может служить информативным маркером качественной оценки биологического заражения на период рабочего цикла прокачки обрабатываемой жидкости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Лазерное излучение терагерцового диапазона электромагнитного спектра оказывает существенное воздействие на микрофлору смазочно-охлаждающих жидкостей, что регистрируется на частотах дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды. При этом физический смысл взаимодействия заключается в соизмеримости энергетических характеристик излучения с энергией водородных связей клеточной системы.
2. Увеличение значения интегрального параметра гидратации (ϵ') в образцах отработанной СОЖ после лазерной экспозиции является следствием увеличения количества свободной воды в системе СОЖ-микрофлора, что связано с ингибированием процессов жизнедеятельности микрофлоры.
3. Применение акустических частот одновременно с воздействием терагерцового излучения позволило выявить сдвиги электромагнитного сигнала до 10 Гц, что может быть использовано, как качественная характеристика контроля уровня биологического заражения СОЖ.

Список литературы

1. Тыртыгин В.Н. Повышение эффективности процесса очистки промышленного сырья от парамагнитных примесей магнитным методом: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. техн. наук: спец. 05.17.08 / В.Н. Тыртыгин.– Иваново, 2010.– 16 с.

2. Березуцька Н.Л. Зниження екологічної небезпеки МОР та продовження терміну її використання в технологічних лініях великої протяжності: автореф. Дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук: спец. 21.06.01 / Н.Л. Березуцька.– Львів, 2008.– 21 с.
3. Солоненко Л.А. Модификация поверхностного натяжения СОЖ присадками из полифункциональных производных органических кислот С3-С4 / Л.А. Солоненко, М.А. Тлехусеж, Л.Н. Сороцкая // Фундаментальные исследования.– 2008.– №7.– С. 63–64.
4. Колесников В.Г. Оценка биологического заражения смазочно-охлаждающей жидкости в миллиметровом диапазоне радиоволн / В.Г. Колесников, Н.В. Хмель, С.И. Хмель // Физика живого.– 2012.– Т. 20, № 2.– С. 38– 42.
5. Бецкий О.В. Миллиметровые волны в биологии / Бецкий О.В., Голант М.Б., Девятков Н.Д. – Москва: Знание, 1988.–64 с.
6. Колесников В. Применение комбинированного воздействия электромагнитных и акустических волн на микроводоросли для выявления резонансных частот / Владимир Колесников, Наталья Древал // Физика живого.– 2010.– Т. 18., № 3.– С. 24–28.
7. Шулаев М.В. Научные основы обезвреживания жидких отходов гальванических и металлообрабатывающих производств с использованием анаэробной биосорбционной технологии: дис....доктора техн. наук : 03.00.16 / Шулаев Максим Вячеславович.– Казань, 2009.– 292 с.

Хмель Н.В. / **Н.В. Хмель** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 165-171.

Проведено дослідження діелектричної проникності та поверхневого натягу мастильно-охолоджувальних рідин (МОР) під час лазерної експозиції свіжоотриманих та відпрацьованих зразків. Застосування частот акустичного діапазону ($f = 1000 \div 2000$ Гц) дозволило реєструвати різницю в електромагнітному відгуці мікрофлори контрольних та експериментальних зразків відпрацьованої МОР. Збільшення кількості вільної води в системі МОР-мікрофлора робить можливим застосування лазерного випромінювання терагерцевого діапазону в металооброблювальній промисловості для санації МОР в процесі її експлуатації.

Ключові слова: лазерне випромінювання терагерцевого діапазону, діелектрична проникність, поверхневий натяг, МОР, мікрофлора.

EFFICIENCY OF TERAHERTZ LASER APPLICATION AT CONTAMINATION OF METAL-CUTTING COMPOUNDS BY MICROFLORA

Khmel N. V.

*Usikov Institute of radiophysics and electronics of National Academy of sciences of Ukraine,
Kharkov, Ukraine
E.mail: dreval@ire.kharkov.ua*

The investigation of permittivity and surface tension of metal-cutting compounds (MCC) during laser exposition of freshly prepared and used samples is carried out. The application of frequencies of acoustic range ($f = 1000 \div 2000$ Hz) has allowed to register differences in the electromagnetic response of microflora control and experimental samples of used MCC. It is shown that increase of free water quantity in system MCC-microflora enables the application of laser irradiation of terahertz range in metal-working industry for MCC sanitation.

It is known that problem of biological pollution of MCC, intensively applied in metal-working industry, remains opened in connection with essential reduction of their working terms. The decision of this question, as a rule, sees in using of expensive bio-additives and biocide additives which, on the one hand, have bactericidal effect on microflora, and, on the other hand, it disorganises of emulsion structure, thus worsening organic indicators of

MCC. Because of labour-intensiveness of disinfecting of MCC, the gravity-flotational method, magnetic method, and the method of aeration are much less often are applied.

In number of experiments we showed that terahertz irradiation of long infra-red range can have essential advantages in the solution of problem of MCC contamination by microflora including microalgae. It is known that energy of irradiation of the HCN-laser and its various modifications comes nearer to energy of hydrogen bonds of macromolecular proteins complexes intra- and extracellular system.

We registered the effect of interaction of terahertz irradiation with microalgae by means of an acoustic-dielectric method on frequencies of dispersion of free water permittivity $f = 10 \div 50$ GHz under acoustic «sweep» - regime $f = 1000 \div 2000$ Hz; thus the measuring cell with investigated sample on the piezo-element directly on exit of 8-mm waveguide was placed. The electromagnetic signal from the measuring line R1-39 was input to the computer for signal processing by specialised programs, including fast Fourier transformation.

In our case, the surface tension is integral in a range of acoustic frequencies $f = 900 \div 2100$ Hz at influence of acoustic waves on MCC at comparison control and experimental samples used MCC. The increase of electromagnetic response (at the frequency analysis of fast Fourier transformation) in an average part of acoustic influence ($f = 1500 \div 1700$ Hz) at comparison control and experimental samples of used MCC was observed. It was caused by occurrence in used MCC of average size «clusters», responding, finally, for integrated increase ϵ' .

The parameter of real part of complex permittivity (ϵ') and surface tension (σ) has been used as marker of microalgae vital functions at various periods of MCC working.

The increase of quantity of free water in system MCC-microalgae on frequencies of modulation by acoustic waves $f = 1000 \div 2000$ Hz in used samples MCC irradiated terahertz laser is observed. The received results testify to inhibition of microflora vital functions after influence terahertz laser, and about visible tendency to recovery of cutting emulsion properties which are typical for control samples.

Keywords: terahertz laser irradiation, permittivity, surface tension, metal-cutting compounds, microflora.

References

1. Tyrtugin V.N. *The increase of cleaning process effectiveness of industrial raw material from paramagnetic additives by magnetic method*, 16 p. (Povolzh.Gos.Univer., Ivanovo, 2010).
2. Berezutskaja N.L. *The decrease of ecological danger MCC and prolongation of their term application for long process line*, 21 p. (Lviv: Lviv.Polytech.Univer., 2008).
3. Solonenko L.A., Tlehusec M.A., Sorozkaja L.N., The modification of surface tension MCC by additions from multipurpose derivatives of organic acid C3-C4, *Fundamental research*, **7**, 63 (2008).
4. Kolesnikov V.G., Khmel N.V., Khmel S.I., The estimate of biological infection of metal-cutting compound in millimetre range of radiowaves, *Physics of alive*, **20** (3), 38 (2012).
5. Bezkij O.V., Golant M.B., Devjatkov N.D. *Millimetre waves in biology*, 64 p. (Znanie, Moskow, 1988).
6. Kolesnikov V.G., Dreval N.V., The application of combine influence of electromagnetic and acoustic waves on microalgae for revelation of resonance frequencies, *Physics of alive*, **18** (3), 24 (2010).
7. Shulaev M.V. *The scientific basis of liquid wasters neutralization of galvanic and metal-working industry with using of anaerobic biosorption technology*, 292 p. (Kazan Gos.Tech.Univer., Kazan, 2009).

Поступила в редакцию 25.04.2014 г.

УДК 615.83+612(063)

ВОЗДЕЙСТВИЕ СИНУСОИДАЛЬНЫХ МОДУЛИРУЮЩИХ ТОКОВ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЮНОШЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

Янцев А.В., Кириллова А.В., Панова С.А., Абдулаев А.А., Саврась Т.Ю.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: kurylova.alla@mail.ru*

Установлено статистически достоверное повышение избирательности и концентрации внимания, а также объема кратковременной памяти под влиянием синусоидальных модулированных токов (СМТ). Выявлено также достоверное повышение уровня настроения.

Ключевые слова: избирательность, концентрация внимания, кратковременная память, самочувствие, активность, настроение.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема детских церебральных параличей является одной из актуальных проблем детской невропатологии.

Социальная значимость этой проблемы настолько велика, что вполне закономерен все увеличивающийся к ней интерес. Детский церебральный паралич (ДЦП) является сложным заболеванием центральной нервной системы, ведущим не только к двигательным нарушениям, но и вызывающим задержку или патологию умственного развития, речевую недостаточность, нарушение слуха и зрения и т.д. [1].

В отечественной и зарубежной литературе вопрос об организации всесторонней, наиболее эффективной помощи детям с церебральными параличами не получил достаточного и полного отражения.

К сожалению, таких детишек с ДЦП очень много, они вынуждены вести другой образ жизни – клиники, санатории, реабилитационные центры и т.д.

ДЦП является самой распространенной причиной детской инвалидности, среди которых на первом месте – заболевания нервной системы. Церебральный паралич является вторым из наиболее распространенных неврологических нарушений в детстве. Первым является задержка психического развития у детей. Врожденные anomalies – на третьем месте.

Заболевание может протекать под разными "масками" синдромов мышечного гипертонуса, дистонии, гипотонии, повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Детям с такими заболеваниями нужно регулярно проходить медосмотры, причем как у ортопеда, так и у логопеда. ДЦП необходимо лечить в момент формирования патологии. И, главное, его не пропустить.

Многочисленными исследованиями показано улучшение функционального состояния центральных и периферических отделов нервной системы под влиянием синусоидальных модулированных токов (СМТ), в клинических наблюдениях отчетливо выявляется обезболивающий эффект [2].

Синусоидальные модулированные токи используются для электростимуляции нервов и мышц. При поражениях поперечнополосатой и гладкой мускулатуры (понижение их тонуса, наличие парезов и параличей) используется II род работы. Частота модуляции выбирается в зависимости от степени поражения: при тяжелых заболеваниях - малая, при легких - более значительная.

СМТ оказывают выраженное действие на систему кровообращения. Помимо местных изменений кровообращения в виде расширения сосудов и притока крови к мышцам в месте воздействия, СМТ оказывают действие на кровоснабжение внутренних органов и головного мозга. Оно заключается в расширении артериол, ускорении кровотока в них, в раскрытии нефункционирующих сосудов, в улучшении венозного оттока. Изменения регионарного кровообращения развиваются преимущественно по сегментарному типу, т. е. в органах, относящихся к тому метамеру тела, в зоне которого проводится воздействие СМТ. Так, при воздействии в зоне шейно-грудного отдела позвоночника улучшается кровоснабжение головного мозга, рефлекторно изменяется хроно- и ионотропная функция сердца, центральная и внутрисердечная гемодинамика; при локальном применении СМТ на заднюю поверхность грудной клетки усиливается кровоснабжение легких, на поясничную область — изменяется почечная гемодинамика и усиливается кровоснабжение почек и т. д. Наиболее выраженные изменения центральной гемодинамики, преимущественно в виде снижения периферического сопротивления сосудов и увеличения сердечного выброса, а также снижения артериального давления, наблюдаются под влиянием воздействий СМТ на шейно-грудной отдел позвоночника.

Вызываемые СМТ улучшение кровообращения, трофики тканей и функционального состояния различных систем организма, активизация обменных процессов, болеутоляющее действие, нормализация эндокринной, гормональной и медиаторной систем, а также способность вызывать сокращение мышц в сочетании с возможностью выбора форм модуляции, позволяющего усиливать какое-либо определенное действие, открывают широкие возможности для использования их в лечении многих заболеваний [3]. Исследование влияния синусоидальных модулированных токов (СМТ) на психофизиологические особенности людей с диагнозом детский церебральный паралич ранее не проводились. Поэтому **целью** данной работы является исследование влияния синусоидальных модулированных токов (СМТ) на психофизиологические особенности людей с диагнозом детский церебральный паралич.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данное исследование проводилось на базе физиотерапевтического кабинета Сакского Центрального военного клинического санатория им. Пирогова. В качестве исследуемой группы были отобраны 10 юношей 19 лет с диагнозом ДЦП

(спастическая диплегия), которым проводилась СМТ-терапия. В связи с тем, что в санатории с данной формой ДЦП находилось на лечении только 10 человек, набор в контрольную группу не представлялся возможным.

Методика проведения СМТ - терапии

Воздействия СМТ проводилось с помощью аппарата «Амплипульс-5», который генерирует переменные синусоидальные токи частотой 5 кГц, модулированные по частоте (от 10 до 150 Гц) и по амплитуде.

Продолжительность воздействий, проводимых ежедневно или через день, составляет 20-25 мин. На курс лечения назначают 8-10 процедур, которые проводят в некоторых случаях. Чаще всего за время одной процедуры воздействуют в течение 20-30 мин на 2-3 зоны. В течение всего курса велось наблюдение за состоянием психофизиологических показателей больных детским церебральным параличом. Исследование показателей фиксировалось дважды: перед началом курса СМТ-терапии, и в конце курса после 10 процедур.

Исследование уровня избирательности внимания и диагностика концентрации внимания

по методике Мюнстерберга

Исследование кратковременной памяти

по методике Джекобсона.

Методика определения самочувствия, активности и настроения (САН).

Целью методики САН является экспресс-оценка самочувствия, активности и настроения. Опросник состоит из 30 пар противоположных характеристик, по которым испытуемого просят оценить свое состояние. Каждая пара представляет собой шкалу, на которой испытуемый отмечает степень выраженности той или иной характеристики своего состояния. Полученные баллы группируются в соответствии с ключом в три категории, и подсчитывается количество баллов по каждой из них [4].

Статистическая обработка результатов исследования.

Для проведения статистического анализа результатов регистраций, полученных до и после СМТ-воздействия использовали пакет прикладных компьютерных программ Statistica 5.5. Учитывая, что результаты проводимых измерений выражались не в абсолютных физических единицах, а в относительных (баллах), было бы некорректно производить расчеты параметрических статистик (дисперсии, стандартного отклонения, стандартной ошибки и т.д.). Поэтому, мы ограничились вычислением показателей центральной тенденции – средней арифметической и медианы, а также минимальных и максимальных значений. Сопоставление результатов регистраций осуществлялось в модуле «Непараметрические критерии» с использованием критерия Вилкоксона для связанных выборок

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние СМТ на избирательность внимания

На первом этапе работы была проведена диагностика избирательности внимания с использованием теста Мюнстерберга. Результаты статистического анализа приводятся в следующей таблице.

Таблица 1.

Статистическая характеристика показателей избирательности внимания

	Среднее значение	Медиана	Минимальный балл	Максимальный балл
До СМТ	4,5	5	2	7
После СМТ	4,9	4,5	3	9

Проведение процедуры СМТ увеличило минимальное значение показателя избирательности внимания с 2 до 3 баллов, а максимальный балл с 7 до 9. Соответственно повысилось среднее значение показателя с 4,5 баллов до 4,9. В процентном отношении увеличение составило 9%.

Оптимизирующее влияние процедуры СМТ было достоверно с вероятностью ошибки менее 5%.

Влияние СМТ на концентрацию внимания.

Далее производилась проверка воздействия СМТ на способность испытуемых к произвольной концентрации внимания, что нашло отражение в таблице 2.

Таблица 2

Статистическая характеристика показателей концентрации внимания

	Среднее значение	Медиана	Минимальный балл	Максимальный балл
До СМТ	4,7	4,5	2	7
После СМТ	5,2	5	2	8

Средняя величина показателя концентрации внимания после проведения СМТ увеличилась с 4,7 до 5,2 баллов, что соответствует превышению первоначальных значений на 11,1%. Диапазон вариации увеличился на один балл, за счет его максимальных значений. Вероятность статистической погрешности, как и в предыдущем случае не превышала 5%.

Влияние СМТ на объем кратковременной памяти

Следующим психофизиологическим показателем, подвергнутым статистическому анализу, был показатель объема кратковременной памяти

Таблица 3

Статистическая характеристика показателей объема кратковременной памяти

	Среднее значение	Медиана	Минимальный балл	Максимальный балл
До СМТ	4,6	5	3	6
После СМТ	5,3	6	3	6

Хотя диапазоны вариации до и после проведения процедуры СМТ практически совпадали (от минимальных значений 3 до максимальных 6) распределение значений для второй регистрации (после проведения МРТ) оказалось смещено в сторону больших величин, на что, в частности, указывает возрастание значений медианы с 5 до 6 баллов. Закономерно увеличилось и среднее значение показателя кратковременной памяти с 4,6 до 5,3 единиц, что в процентном отношении составило 15,2% ($p < 0,05$).

Влияние СМТ на самочувствие, активность и настроение

Фактический материал теста САН представлен на рисунке 1.

Как видно из анализа рисунка 1, процедура СМТ улучшает значения всех трех психофизиологических показателей. Среднее значение уровня самочувствия после воздействия повышается с 3,9 до 4,1 балла, что в процентном отношении составляет 5,1%, уровень активности повышается с 3,8 до 4,1 балла (8,9%), а настроения – с 3,8 до 3,9 балла (2,6%).

Увеличивается также максимальный балл по показателям самочувствия и активности. Вместе с тем, численные характеристики повышения самочувствия и настроения не достигали такого уровня, чтобы их можно было признать статистически достоверными ($p > 0,05$). И только для показателя активности различия были статистически значимы ($p < 0,05$).

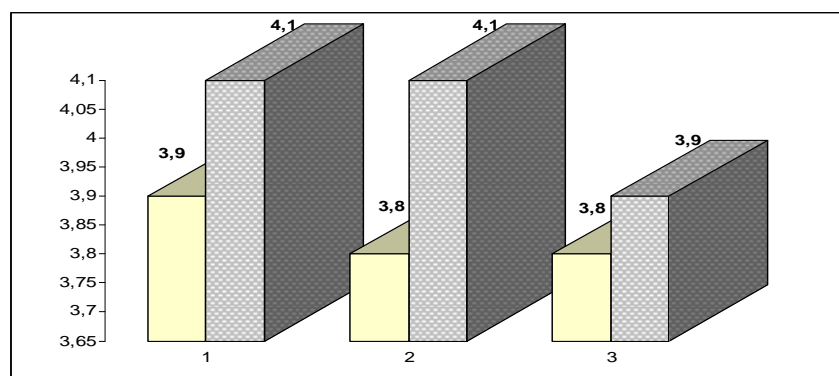


Рис.1. Результаты теста САН до и после воздействия СМТ (по оси ординат – значения показателей по 5- балльной шкале)
1 – самочувствие; 2 – активность; 3 - настроение
Прозрачные фигуры – до воздействия;
заштрихованные – после проведения СМТ.

Обобщение результатов исследования

Для того, чтобы выявить общий тренд воздействия процедуры СМТ на показатели внимания, памяти и составляющие теста САН, и учитывая, что они оцениваются по одинаковой 10 – балльной ранговой шкале (для теста САН был использован поправочный коэффициент $\times 2$), мы сочли возможным обобщить их

результаты для последующего сопоставления с использованием критерия Вилкоксона. Результаты анализа отражены на скриншоте модуля программы Statistica 5.5. «Непараметрические критерии» и представлены в таблице 4 на рисунке 2.

Таблица 4.

Скриншот анализа Вилкоксона суммарных результатов тестирования влияния СМТ на психофизиологические показатели испытуемых

NONPAR STATS	Valid N	T	Z	p-level
VAR10 & NEWVAR11	70	415,0000	3,398891	,000677

В ячейках таблицы: N – общий объем связанных выборок; T - количество парных регистраций; Z – фактическое значение критерия Вилкоксона; p-level – наиболее вероятное значение ошибки статистического заключения.

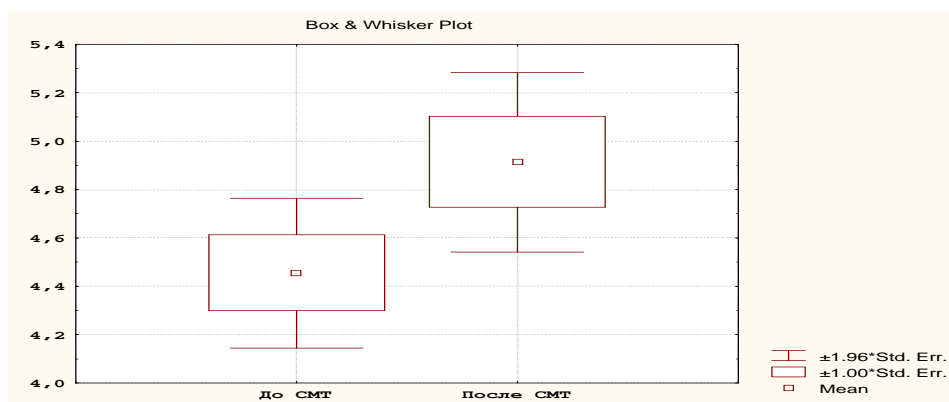


Рис.2. Обобщенное влияние СМТ на психофизиологические показатели внимания, памяти и составляющие теста САН

По оси ординат – значения показателей по 10-балльной шкале

Наивысший уровень значимости наблюдаемых изменений ($p < 0,001$) однозначно указывает на благотворное влияние СМТ на указанные психофизиологические характеристики организма испытуемых.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что воздействие СМТ достоверно повышает избирательность внимания на 9% и концентрацию внимания на 11,1% ($p < 0,05$).
2. Показатель объема кратковременной памяти после СМТ – воздействия возрастает на 15,2%. Ошибка статистического заключения при этом не превышает 5%.

3. Установлено что СМТ статистически достоверно повышает уровень настроения со средних значений 3,8 до 4,1 балла, что соответствует увеличению на 8,9% по отношению к исходному уровню ($p < 0,05$).

Список литературы

1. Бадалян Л.О. Детские церебральные параличи. / Л.О. Бадалян, Л.Т. Журба - Киев, 2003. - 415с.
2. Семенова К.А. Детские церебральные параличи. / Семенова К.А. – М., 1968. - 240с.
3. Аверьянова Н.И. Основы физиотерапии. Изд. 2-е / Н.И. Аверьянова, И.А. Шипулина.– Ростов-на Дону: Феникс, 2010. – 213 с.
4. Мельников В.А. Практикум по основам психологии: тесты и хрестоматия. Учебное пособие для студентов медицинского института / Мельников В.А. - Симферополь: «СОНАТ», 1997. – 254 с.

Янцев О.В. Вплив синусоїдальних модулюючих струмів на психофізіологічні показники юнаків з дитячим церебральним паралічом / **О.В. Янцев, О.В. Кириллова, С.А. Панова, А.А. Алієв, Т.Ю. Саврась** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 172-179.

Результати дослідження свідчать про статистично достовірному підвищення вибірковості і концентрації уваги, а також обсягу короткочасної пам'яті під впливом синусоїдальних модульованих струмів (СМС). Виявлено також достовірне підвищення рівня настрою.

Ключові слова: вибірковість, концентрація уваги, короткочасна пам'ять, самопочуття, активність, настрої.

THE IMPACT OF SINUSOIDAL MODULATING CURRENTS ON PSYCHOPHYSIOLOGICAL INDICATORS OF A YOUNG MAN WITH CEREBRAL PALSY

Yantsev A.V., Kirillova A.V., Panova S.A., Aliyev A.A., Savrasj T.Y.

*Tavrida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: kirylova.alla@mail.ru*

Infantile cerebral paralysis is the most common cause of child disability, among which in the first place - diseases of the nervous system. Cerebral palsy is the second most common neurological disorders in childhood. The first is the delay of mental development in children. Congenital anomalies are on the in third place. The disease may be under different "masks" such as muscle gipertonus, dystonia, hypotonia, increased nervous-reflex excitability. Children with this disease should undergo regular medical examinations, both at the orthopedist, and a speech therapist. Cerebral paralysis to be treated at the time of formation of pathology. And the main thing, is not to miss it [1].

Numerous studies have shown improvement of the functional state of Central and peripheral nervous system sections under the influence of the sinusoidal modulating currents (SMC). In addition there is a distinct analgesic effect.

Sinusoidal modulated currents are used for electrical stimulation of nerves and muscles. With the defeat of striated and smooth muscles (to lower their tone, the presence of paresis and paralysis) is used II kind of work. Frequency modulation is chosen depending on the extent of injury: severe disease is small, with light - more significant. SMC have a marked effect on the circulatory system. In addition to local changes of blood circulation in the form

of vasodilatation and increase of a blood flow to the muscles in the affected area, the SMC have an effect on the supply of blood to the internal organs and brain. It consists in expansion of arterioles, acceleration of blood flow in them, in the disclosure of the non-functioning of blood vessels, improving venous outflow. Changes in the regional circulation develop mainly on segmental type, i.e., in the organs belonging to the metamer body in the area which is held the impact of the SMC. Thus, the effects in the area of cervicothoracic spine improves blood flow to the brain, reflex changes chronotropic and ionotropic effects of the heart, Central and intracardiac hemodynamics; in the local application of the SMC on the back surface of the chest increase blood circulation to the lungs, the lumbar region - changes renal hemodynamics and increases the supply of blood to the kidneys and so on. The most expressed changes of Central hemodynamics, mainly in the form of a reduction in peripheral vascular resistance and an increase in cardiac output and blood pressure lowering observed under the influence of the effects of the SMC on the cervical-thoracic spine[2].

Caused by the SMC improvement of blood circulation, tissue trophism and functional state of various systems of the body, activation of metabolic processes, analgesic effect, normalization of the endocrine, hormonal and mediator systems, as well as the ability to cause muscle contraction combined with the possibility of choice of modulation, allowing to enhance any specific action, open up broad possibilities for use in the treatment of many diseases.

Have studied the effects of sinusoidal modulated currents (SMC) [3] on the psychophysiological features of people diagnosed with cerebral paralysis. Estimated level of selectivity, concentration, short-term memory, as well as determined the state of health, activity, mood before and after exposure SMC therapy.

For statistical analysis of the results of registrations received before and after the SMC-impact use the package of applied computer programs Statistica 5.5. Produced calculation of indicators of Central tendency, the arithmetic average and median, and the minimum and maximum values. Comparison of the results of registrations was carried out in module «Nonparametric» using Wilcoxon criterion for dependent samples [4]. It is shown that the impact of the SMC significantly improves selectivity of attention by 9% and the concentration of 11.1% ($p < 0.05$). The volume of short-term memory after SMC - exposure increase of 15.2%. Error statistical conclusion does not exceed 5%. It is also found that the SMC significantly increases the level of mood with average values of 3.8 to 4.1 points, which represented an increase of 8.9% compared to baseline ($p < 0.05$).

Keywords: selectivity, concentration, short-term memory, state of health, activity, and mood.

References

1. Badalyan L., Zhurba LT Children's cerebral paralysis. / Badalyan L., Zhurba L.T. in Kiev, 2003.-415p.
2. Semenova, K. A. Children's cerebral paralysis. / Semenova, K. And.), 1968. - 240p.
3. Averyanova N. I. Fundamentals of physical therapy. Ed. 2nd / Averyanova N. I., Shipulina And. And..- Rostov-on-don, Phoenix, 2010. - 213p.
4. Melnikov V.A. Workshop on foundations of psychology: tests and reader. Textbook for medical students / Melnikov V.A.. - Simferopol: "SONATAS", 1997. - 254p.

Поступила в редакцию 07.05.2014 г.

УДК 611.1:796.056.1

ПЕРЕХОД НА «ЗИМНЕЕ ВРЕМЯ» ВЫЗЫВАЕТ ДЕСИНХРОНОЗ В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У СПОРТСМЕНОВ

Ярмолюк Н.С., Грабовская Е.Ю.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: nat_yarm@mail.ru*

Показано, что переход на «зимнее» время приводит к изменению инфрадианной ритмики частоты сердечных сокращений спортсменов, что выражается в перестройке структуры спектров и амплитудно-фазовых взаимоотношений, то есть в развитии десинхроноза. Десинхроноз у спортсменов более выражен у девушек, чем у юношей.

Ключевые слова: инфрадианная ритмика, частота сердечных сокращений, переход на «зимнее» время, спортсмены.

ВВЕДЕНИЕ

Важное место в системе подготовки спортсменов занимает оценка эффективности тренировочного процесса, что невозможно без анализа информации о функциональном состоянии систем организма. Согласно современным представлениям функциональное состояние в значительной степени определяется временной организацией физиологических систем. В частности, рассогласование деятельности различных систем или десинхроноз значительно снижает эффективность и результативность тренировочного процесса. Причинами развития десинхроноза могут быть стресс-реакция, трансмеридианные перелеты, переходы на «зимнее» и «летнее» время. Но если влияние стресса и перелетов на состояние спортсменов изучено достаточно полно, то последствия перехода на «зимнее» и «летнее» время не исследованы. Поэтому целью исследования явился анализ инфрадианных ритмов (ИР) частоты сердечных сокращений (ЧСС) у юношей- и девушек, занимающихся спортом, в период перехода на «зимнее» время.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовало 40 спортсменов-игровиков, из них 20 юношей и 20 девушек. Все обследованные лица являлись студентами 1-4 курсов факультета физической культуры и спорта ТНУ имени В.И. Вернадского. Возраст испытуемых составил 18-21 год, стаж занятий спортом не менее 3-5 лет. Исследования проводились с 8 до 10 утра до тренировки спортсменов. У всех волонтеров определялся биологический профиль [1], все испытуемые относились к

аритмичному типу. Эксперимент проводился в период перехода на «зимнее» время, который осуществлялся в ночь с 26 на 27 октября 2013 года. ИР ЧСС спортсменов исследовалась в течение 14 суток до перевода времени в период с 13 по 26 октября 2013 года, и в течение 14 суток после перевода времени в период с 27 октября по 9 ноября 2013 года.

Для определения ЧСС был использован метод пульсометрии – один из наиболее простых, доступных и достаточно информативных показателей функционального состояния кровообращения. Измерения проводились цифровым прибором для определения артериального давления и частоты пульса Nissei DS-137.

Проверка полученных данных на закон нормального распределения позволила применить параметрический метод в статистической обработке и анализе материала исследования. Вычисляли среднее значение исследуемых величин и ошибку средней. Оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью t-критерия Стьюдента. За достоверную принимали разность средних при $p < 0,05$. Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Statistica и Microsoft Excel [2, 3].

В качестве основного метода анализа продолжительности периодов и амплитудно-фазных характеристик ЧСС использовали быстрое преобразование Фурье, обеспечивающее разложение временного ряда на конечное число элементарных периодических компонент, и программу косинор-анализа (решение систем линейных уравнений методом Крамера), дающие полное представление о структуре физиологических ритмов [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя результаты проведенных исследований, отмечены некоторые различия в ИР ЧСС девушек и юношей, занимающихся спортом, в условии перехода на «зимнее» время.

До перевода времени спектр периодов девушек-спортсменок состоял из четырех ритмов: $\approx 2^d,13$, $\approx 2^d,67$, $\approx 3^d,28$ и $\approx 5^d,57$. Амплитуды выделенных ритмов колебались от $0,23 \pm 0,04$ усл.ед. до $0,28 \pm 0,04$ усл.ед. Доминирующим являлся период $\approx 2^d,67$. После перевода времени в спектре девушек-спортсменок количество выявленных периодов не изменилось: $\approx 2^d,13$, $\approx 2^d,67$, $\approx 4^d,57$ и $\approx 6^d,73$. С увеличением длины периода амплитуды ритмов несколько возрастали, достигая максимального значения в доминирующем ритме $\approx 6^d,73$ ($0,24 \pm 0,03$ усл.ед.) (рис. 1).

Таким образом, после перехода на «зимнее» время доминирующий ритм в спектре девушек-спортсменок смещается в сторону низкочастотных ритмов относительно доминирующего ритма, выявленного до перевода времени. Следует отметить, что до перевода времени отмечаются периоды $\approx 3^d,28$ и $\approx 5^d,57$, не выявленные после перевода времени. Тогда как после перевода времени отмечены ритмы $\approx 4^d,57$ и $\approx 6^d,73$, не характерные до перехода на «зимнее» время. Кроме того, в периоде $\approx 2,13$ суток выявлено достоверное снижение амплитуды на $\approx 25\%$ ($p < 0,05$) (рис. 1).

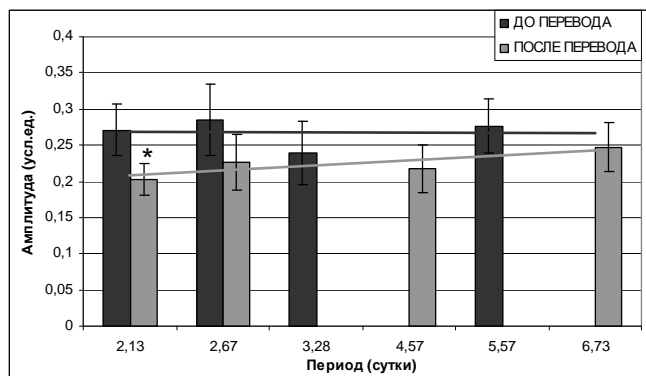


Рис. 1. Спектры периодов инфрадианных ритмов частоты сердечных сокращений девушек-спортсменок до и после перехода на «зимнее время»
Примечание: * - достоверность различий сравниваемых групп: * – (p<0,05)

В ИР ЧСС юношей-спортсменов до перевода времени были выявлены следующие периоды: $\approx 2^d,1$, $\approx 3^d,12$ и $\approx 4^d,57$, при этом доминирующим ритмом был – $\approx 4^d,57$ с амплитудой $0,33 \pm 0,03$ усл.ед. Тогда как после перехода на «зимнее» время в спектре юношей-спортсменов отмечены такие ритмы: $\approx 2^d,1$ и $\approx 4^d,0$, при этом доминирующим был высокочастотный период $\approx 2^d,1$ с амплитудой $0,26 \pm 0,01$ усл.ед.

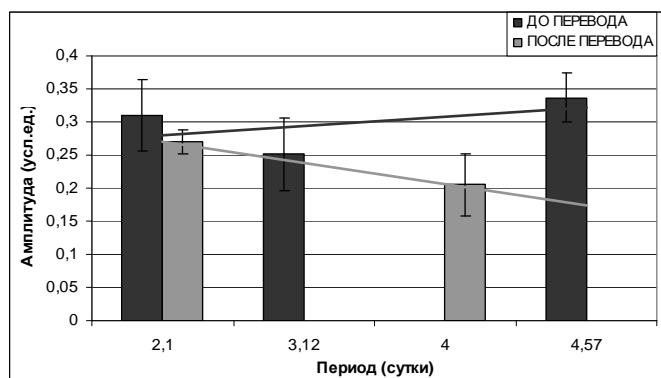


Рис. 2. Спектры периодов инфрадианных ритмов частоты сердечных сокращений юношей-спортсменов до и после перехода на «зимнее время»

Таким образом, исследуемый спектр ИР ЧСС юношей-спортсменов после перехода на «зимнее» время становится менее насыщенным, так как выявляется два периода, что на один период меньше, чем до перехода на «зимнее» время. Кроме того, после перевода времени доминирующий ритм смещается в сторону высокочастотных ритмов относительно такового, выявленного до перевода времени. При этом амплитуды выделенных ритмов до перевода времени возрастают с увеличением длины периода, тогда как после перевода времени была отмечена выраженная тенденция к понижению амплитуд с увеличением длины периода (рис. 2).

Анализ фазовых взаимоотношений между ритмами различной продолжительности позволил выявить неодинаковый характер изменений ритмики, возникающий в результате сдвига фаз каждого выделенного ритма. Разница фаз в спектре периодов девушек-спортсменок до перевода времени колебалась от 0,149 до 5,864 радиан, однако их различия были не достоверны. Тогда как после перевода времени обнаруживается другая организация ИР. В этом случае фазы всех ритмов сдвигаются вперед по отношению с таковой до перевода времени (рис. 3).

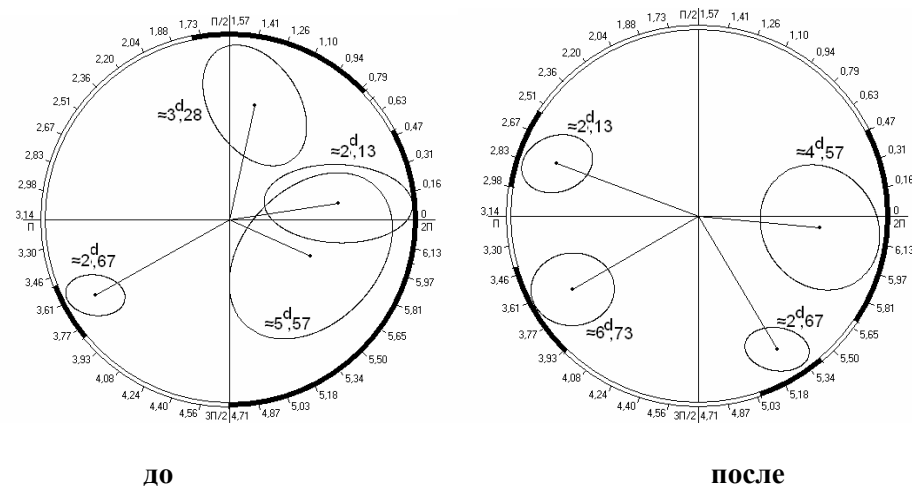


Рис. 3. Косинорограммы периодов (радианы) частоты сердечных сокращений девушек-спортсменок до и после перехода на «зимнее» время.

Следует обратить внимание на то, что переход на «зимнее» время сопровождался достаточно выраженной рассогласованностью ритмов. Так, разность фаз между всеми выделенными периодами была значительна: между ритмами $\approx 2,13$ и $\approx 2,67$ суток сдвиг составляет $140,2^\circ$ ($p < 0,05$), а максимального значения фазовая рассогласованность достигает между периодами $\approx 2,13^d$ и $\approx 4,57^d$ – $194,3^\circ$ ($p < 0,05$) (рис. 3). Таким образом, переход на «зимнее» время вызывает выраженное развитие десинхронизации у девушек-спортсменок.

Косинор-анализ позволил выявить определенные межфазные соотношения и в спектре юношей-спортсменок до и после перехода на «зимнее» время. Однако в высокочастотном периоде $\approx 2^d,1$ отмечена только тенденция к сдвигу фаз на 26° .

Таким образом, полученные нами данные значительно расширяют представления о рассогласовании биологических ритмов при переходе на «зимнее» время. Другие авторы также обнаружили изменения физиологических показателей при переходе на «летнее» время. Valdez P. et al. (1996) считают, что даже часовой сдвиг при переходе на «летнее» время у некоторых людей требует периода реадaptации в несколько недель [5]. Lahti T.A. et al. (2008) показали, что у утренних хронотипов («жаворонков») переход на «зимнее» время переносится тяжелее и сопровождается

более выраженными нарушениями физиологических процессов, тогда как у вечерних хронотипов («сов») тяжелее переносится переход на «летнее» время [6].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что переход на «зимнее» время становится причиной десинхроноза у спортсменов. Типичными проявлениями десинхроноза являются снижение работоспособности, вялость, усталость, нарушения сна, деятельности желудочно-кишечного тракта, часто наблюдаются головные боли, шум в ушах и другие явления [6]. Острый десинхроноз проявляется выраженными нарушениями ритма сон-бодрствование, изменениями психического статуса и вегето-сосудистыми сдвигами. Отмечено, что у спортсменов, не прошедших курс специальной коррекции, наблюдается острый срыв адаптационных возможностей. В конечном итоге, это приводит к существенному снижению функциональной готовности спортсменов, невозможности полноценной подготовки к предстоящим стартам и, следовательно, к снижению результативности [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Переход на «зимнее» время сопровождается изменениями ИР ЧСС у спортсменов, что выражается в сокращении числа выявленных периодов, изменении амплитуд и достоверных сдвигах фаз, то есть в развитии десинхроноза.
2. Десинхроноз, развивающийся при переходе на «зимнее» время, более выражен у девушек-спортсменок.

Список литературы

1. Доскин В.А. Биологические ритмы растущего организма. / В.А. Доскин, Н.Н. Куиджи – М.: Медицина, 1989 – 224 с.
2. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. – К.: Модмон, 2000. – 319 с.
3. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. / Боровиков В. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
4. Емельянов И.П. Формы колебания в биоритмологии / Емельянов И.П. – Новосибирск: Наука, 1976. – 127 с.
5. Valdez P. Delaying and extending sleep during weekends: sleep recovery or circadian effect? / P. Valdez, C. Ramírez, A. García // Chronobiol Int. – 1996 – Vol. 13(3). – P. 191-198.
6. Lahti T.A. Transitions into and out of daylight saving time compromise sleep and the rest-activity cycles / T.A. Lahti, S. Leppämäki, J. Lönnqvist, T. Partonen // BMC Physiology – 2008. – Vol. 8. – P. 3.
7. Губин Д.Г. К вопросу об изменении часовых поясов и о переходе на летнее время в РФ / Д.Г. Губин, С.М. Чибисов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, Биологические науки – 2010. – №2. – С. 64-68.

Ярмолюк Н.С. Перехід на «зимовий час» викликає десинхроноз в діяльності серцево-судинної системи у спортсменів / Н.С. Ярмолюк, О.Ю. Грабовська // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 180-185.

Показано, що перехід на «зимовий» час призводить до зміни інфрадіанної ритміки частоти серцевих скорочень спортсменів, що виражається в перебудові структури спектрів і амплітудно-фазових взаємин, тобто у розвитку десинхроноза. Десинхроноз більш виражений у дівчат, ніж у юнаків, що займаються спортом.

Ключові слова: інфрадіанна ритміка, частота серцевих скорочень, перехід на «зимовий» час, спортсмени.

**TRANSITION TO "WINTER TIME" CAUSES DESYNCHRONOSIS IN TO
CARDIOVASCULAR SYSTEM IN ATHLETES**

Yarmolyuk N.S., Grabovskaya E.J.

*Tavrida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: nat_yarm@mail.ru*

Important place in the training of athletes takes evaluation of the training process, which is impossible without an analysis of information on the functional state of the body's systems. According to modern concepts functional state is largely determined by temporal organization of physiological systems. In particular, the disagreement among the various systems or desynchronosis significantly reduces the efficiency and effectiveness of the training process. The reasons for the development of desynchronosis can be stress-response, transmeridian flights, transitions to "winter" and "summer" time. But if the influences of stress and flights on the state of the athletes are studied full enough, the consequences of the transition to "winter" and "summer" time is not investigated. Therefore, the aim of the study was the analysis infradian rhythms of the heartbeat of the young men and women athletes in the period of transition to "winter" time.

The study involved 40 athletes, 20 boys and 20 girls. The experiment was conducted in the period of transition to "winter" time, which was carried out on the night of 26 to 27 October 2013.

It is shown that the transition to "winter" time leads to a change of infradian rhythmicity of heart rate of athletes, resulting in the restructuring of the spectrum and amplitude-phase relations, i.e. in the development of desynchronosis. Desynchronosis is more pronounced among girls than boys involved in sports.

Keywords: infradian rhythm, heart rate, the transition to "winter" time, athletes.

References

1. Doskin V.A., Kuidzhi N.N. Biological rhythms of the growing organism, M.: Medicine, (1989)
2. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statistical methods in biomedical research using Excel, K.: Modmon, (2000)
3. Borovikov V. Statistica. Art computer data analysis: For professionals. 2nd ed. - St. Petersburg.: Peter, (2003).
4. Emelyanov I.P. Waveform in biorhythmology, Novosibirsk: Nauka, (1976)
5. Valdez P, Ramírez C, García A. Delaying and extending sleep during weekends: sleep recovery or circadian effect? *Chronobiol Int.* Aug; **13(3)**,191, (1996)
6. Lahti T.A., Leppämäki S., Lönnqvist J., Partonen T. Transitions into and out of daylight saving time compromise sleep and the rest-activity cycles. *BMC Physiology*, **8**, 3, (2008)
7. Gubin D.G., Chibisov S.M. On the variation of time zones and daylight saving time in Russia. *International Journal of Applied and Basic Research in Biological Sciences*; **2**, 64, (2010).

Поступила в редакцию 27.04.2014 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 27 (66). 2014. № 2. С. 186-195.

УДК 577.113

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИЙ ДНК-ИНТЕРКАЛЯТОРОВ С КОФЕИНОМ НА ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ БАКТЕРИИ

Кацев А.М.¹, Скамрова Г.Б.², Евстигнеев М.П.^{2,3}

¹Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского,
Симферополь, Республика Крым, Российская Федерация

²Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Республика
Крым, Российская Федерация

³Белгородский государственный университет, Белгород, Российская Федерация
E-mail: katsev@mail.ru

В настоящее время одним из перспективных направлений развития медикаментозного лечения различных заболеваний является комбинированное использование различных лекарственных препаратов. Целью работы было выявление закономерностей проявления, а также поиск механизма совместного влияния комбинации ароматических соединений на *in vitro* уровне. С помощью биотеста на основе морских светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1 изучали концентрационно-зависимый протекторный эффект действия кофеина на типичные мутагенные препараты профлавинов и бромистый этидий, который заключался в восстановлении бактериального свечения при введении кофеина. Полученные данные косвенно указывают на то, что в основе наблюдаемого протекторного эффекта лежит интерцепторный механизм, обусловленный гетероассоциацией препаратов с кофеином. Это также дает основание утверждать, что биолюминесценция нативных светящихся бактерий является показателем биологического эффекта ароматических токсических соединений и их комбинаций.

Ключевые слова: биолюминесцентный тест, профлавинов, бромистый этидий, кофеин, *Photobacterium leiognathi*.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одним из перспективных направлений развития медикаментозного лечения различных заболеваний является комбинированное использование различных лекарственных препаратов, взаимно-дополняющих, либо взаимно-усиливающих эффект друг друга. Лекарственные препараты, основой которых являются ароматические соединения, достаточно широко используются в комбинированной терапии раковых заболеваний [1]. Считается, что одним из возможных механизмов совместного действия ароматических соединений может выступать нековалентное комплексобразование таких молекул в биологической

жидкости, модулирующее медико-биологическую активность препаратов – так называемый интерцепторный механизм действия [2, 3]. Многочисленные подтверждения этой гипотезе были обнаружены на *in vitro* уровне для различных клеточных систем и комбинаций ароматических препаратов с такими ароматическими молекулами как кофеин [4, 5], рибофлавин [6], хлорофиллин [7, 8] и некоторых других (называемыми интерцепторами или перехватчиками [2, 3]). Более того, существуют основания полагать, что интерцепторный механизм является общезначимым для биологических *in vitro* систем, содержащих смесь препарат-интерцептор, и не зависящим от вида клеточной культуры и способа регистрации биологического отклика [9, 10].

В настоящей работе с целью выявления закономерностей проявления, а также поиска механизма совместного влияния комбинации ароматических соединений на *in vitro* уровне, нами был впервые использован биолюминесцентный тест на основе морских светящихся бактерий. Такие тест-объекты реагируют изменением интенсивности свечения на любые колебания метаболизма, поэтому многие вещества с различными механизмами действия могут быть оценены с использованием такого метода. По данным [11], как ингибирование биолюминесценции, так и ее активирование более чем на 50%, связано с проявлением токсичности. Этот принцип широко описан в литературе и используется для оценки экотоксичности водных сред. С другой стороны биолюминесцентный метод основан на точном измерении физического сигнала - интенсивности излучаемого света, что приближает его к более точным физико-химическим методам. В качестве действующих веществ нами использовались классические комбинации кофеина с ДНК-связывающимися ароматическими мутагенами: профлавином и бромистым этидием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали ДНК-интеркаляторы бромистый этидий (БЭ), профлавин (ПФ), и кофеин (КАФ) производства фирмы Sigma (USA). Биолюминесцентный анализ проводили с помощью светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1, выделенных из Азовского моря и обладающих высокой чувствительностью к действию токсических факторов различной природы, а также высокой скоростью роста [12, 13].

Изучение острого действия веществ (токсичности). Подготовку бактерий для биотестирования осуществляли следующим образом. Музейную культуру, которая хранилась на полужидком агаре под вазелиновым маслом, высевали на жидкую питательную среду. После инкубации при температуре 30 °С, бактерии анализировали визуально на наличие биолюминесценции. При выявлении свечения, бактерии с жидкой питательной среды высевались на твердую среду с рассевом до отдельных колоний. Для следующего пересева отбирали наиболее ярко светящуюся колонию, которую пересевали на жидкую питательную среду и использовали для проведения биотестирования.

Полученную на предыдущем этапе бактериальную культуру разводили 3 % хлоридом натрия до концентрации клеток $5 \cdot 10^5$ кл/мл. Для определения острого действия (токсичности) образцов, в кюветах люминометра смешивали 0,8–0,9 мл

тестируемого раствора в 2,5–3%-ом растворе NaCl, 100 мкл буферного раствора с рН=7,0 и 50 мкл бактериальной суспензии. Регистрировали изменение интенсивности биолюминесценции в течение 30–120 минут с использованием самописца. Результаты представляли в виде зависимости интенсивности биолюминесценции $I=(I_t/I_0) \cdot 100$ (%) (где I_t – интенсивность биолюминесценции в присутствии вещества; I_0 – интенсивность биолюминесценции в контроле), от концентрации вещества.

Хроническое действие (токсичность) определяли по эффекту тестируемого объекта на рост и биолюминесценцию светящихся бактерий. В кюветы люминометра вносили 0,8–0,9 мл 3%-го раствора хлорида натрия, 5–50 мкл тестируемого образца и 50 суспензии светящихся бактерий. После измерения биолюминесценции в пробы вносили 20–50 мкл стерильной среды для светящихся бактерий и помещали их в термостат при температуре 30°C на 16 ч. Измерение биолюминесценции и обработку результатов проводили аналогично методике определения острого действия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Раздельное исследование действия мутагенных веществ на биолюминесценцию светящихся бактерий показало, что при концентрации до 0,1 мг/мл (ПФ – 0,4 ммоль/л; БЭ – 0,25 ммоль/л), а для кофеина – до 1 мг/мл (5,2 ммоль/л) и времени контакта с бактериями до 60 мин, все они действуют аналогичным образом, ингибируя бактериальную биолюминесценцию. Для БЭ отмечалось некоторое возрастание свечения при концентрациях до 0,05 ммоль/л (рис. 1-3).

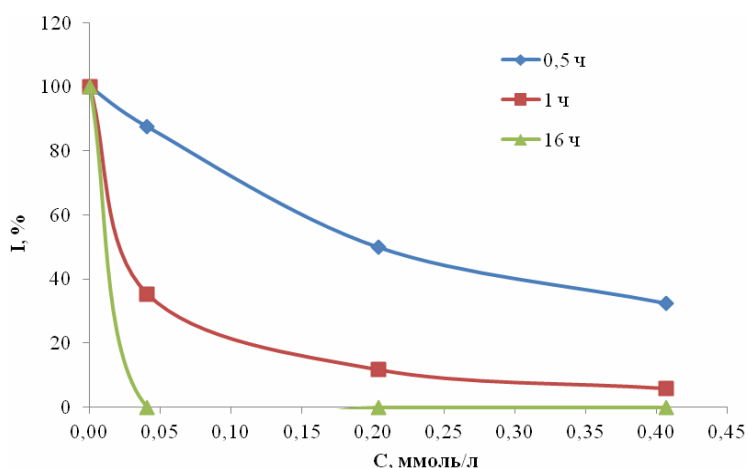


Рис. 1. Острое и хроническое действие профлавина на биолюминесценцию *P. leiognathi* Sh1.

Оценка хронического действия веществ выявила их разнонаправленный характер: КАФ и БЭ приводили к значительному возрастанию интенсивности бактериального свечения, ПФ – к полному её тушению (рис. 1–3). При этом биологический эффект проявлялся при более низких концентрациях, чем острое

действие. Дальнейшее снижение концентрации веществ и определение их эффективных значений, при которых происходило увеличение или снижение биолюминесцентного сигнала в 2 раза ($ЭК_{50}$), показало, что для БЭ и ПФ они соответственно равны 0,002 и 0,008 ммоль/л.

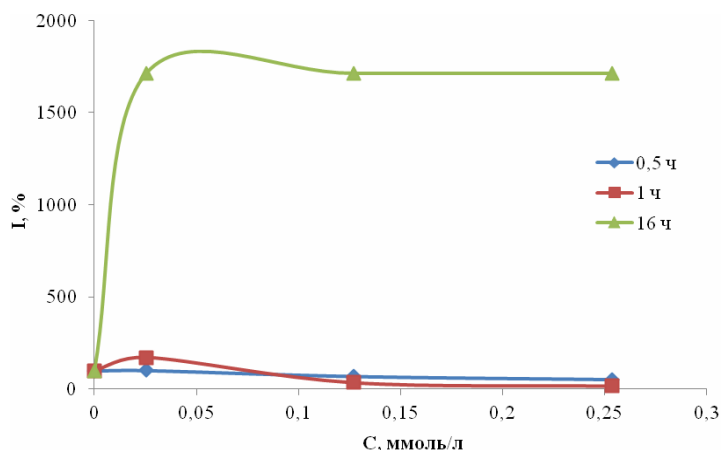


Рис. 2. Острое и хроническое действие бромистого этидия на биолюминесценцию *P. leiognathi* Sh1.

Как показано в работе [14], разнонаправленный характер влияния мутагенных веществ на светящиеся бактерии связан с двумя процессами. Повышение люминесценции является результатом взаимодействия с нуклеиновыми кислотами и мутагенного действия, в то время как, ингибирование свечения определяется токсичностью. Для одного и того же штамма светящихся бактерий при низких концентрациях веществ-мутагенов ПФ и БЭ наблюдалась стимуляция биолюминесценции, а при более высоких – ее снижение. При этом кофеин, даже при концентрациях на порядок выше остальных веществ, проявлял только мутагенные свойства, но не токсические. Полученные результаты указывают на то, что наблюдаемая в данной работе реакция бактериальной культуры на ароматические мутагены в виде изменения биолюминесценции является результатом совместного действия токсического и мутагенного эффектов, причем при близких значениях молярных концентраций ПФ проявляет токсические свойства в тесте на хроническое действие, а БЭ – мутагенные. Это совпадает с данными [15], а также с тем, что ПФ используется в качестве бактериостатического лекарственного средства. Отметим, что по данным разных авторов (см. [16, 17] и ссылки в них) равновесная константа комплексообразования БЭ с нативной ДНК в несколько раз превышает константу для ПФ, что в целом косвенно подтверждает роль ДНК в интерпретации механизма обнаруженной разнонаправленности.

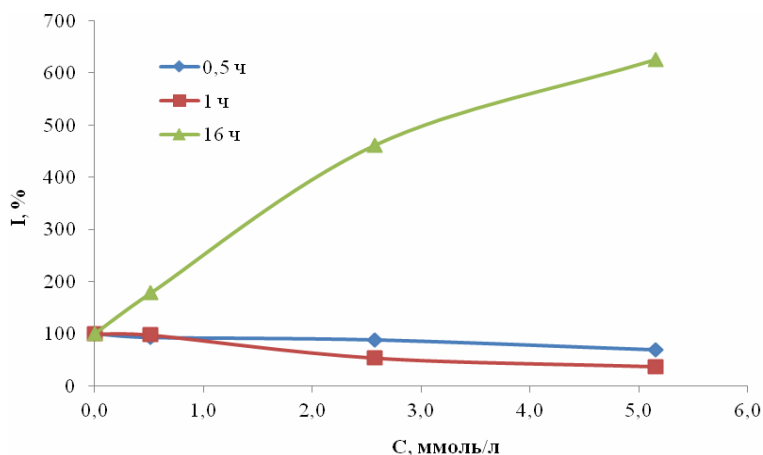


Рис. 3. Острое и хроническое действие кофеина на биолуминесценцию *P. leiognathi* Sh1.

При изучении совместного действия кофеина и ДНК-интеркаляторов с использованием методики оценки острого действия (1 ч) было установлено, что при соотношениях кофеин/препарат приблизительно 100:1 (моль/моль) происходит восстановление биолуминесценции до уровня 100% (рис. 4). При использовании методики оценки хронической токсичности, наблюдалась концентрационно-зависимая отмена разнонаправленного действия интеркаляторов на светящиеся бактерии под действием КАФ, которая выражалась в снижении биолуминесценции, активированной БЭ, и восстановлении свечения, ингибированного ПФ (рис. 5). Отмеченные эффекты наблюдались при соотношениях КАФ/препарат 100–200, что совпадает с результатами, полученными при использовании методики оценки острого действия.

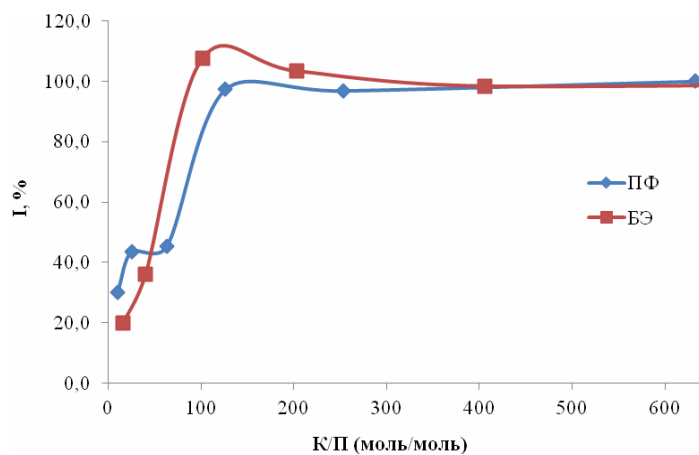


Рис. 4. Острое действие ПФ и БЭ в присутствии КАФ (по оси X: К/П – соотношение кофеин/препарат, моль/моль).

Таким образом, несмотря на разнонаправленность действия исследуемых веществ, полученные результаты указывают на «протекторный эффект» кофеина по отношению, как к мутагенному, так и токсическому действиям ДНК-интеркаляторов. Концентрационно-зависимый протекторный эффект кофеина в различных клеточных [18] и бактериальных [4, 5] системах в присутствии токсичных ароматических соединений известен в литературе достаточно давно. Важно подчеркнуть, что в системах Препарат-Кофеин типичный протекторный эффект проявляется при концентрациях КАФ на 2–3 порядка больших, чем концентрации действующего вещества, что хорошо согласуется с соотношением концентраций КАФ/Препарат, представленным на рис. 4.

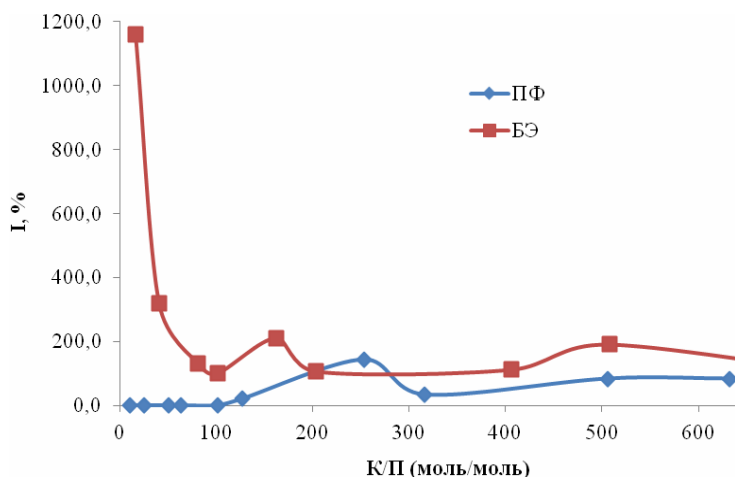


Рис. 5. Хроническое действие ПФ и БЭ в присутствии КАФ (по оси X: К/П – соотношение кофеин/препарат, моль/моль).

По нашим данным, в подавляющем большинстве случаев, интерпретация протекторному эффекту, даваемая различными авторами, сводится к так называемому механизму интерцепторного действия, суть которого заключается в следующем [2–10, 18]. Ароматические молекулы препарата и кофеина, присутствующие в исследуемой культуре *одновременно*, способны образовывать нековалентные гетерокомплексы друг с другом, стабилизированные стэкинг-взаимодействиями ароматических хромофоров. Такой гетерокомплекс является «неактивным» в биологическом смысле, следовательно, гетероассоциация уменьшает число «активных» мономерных форм препарата, способных вызвать биологический эффект. Это приводит к протекторному эффекту, наблюдаемому, в частности, и в настоящей работе. Полученные результаты также показывают, что одни и те же концентрации кофеина защищают как от мутагенного эффекта БЭ, так и от токсического эффекта ПФ. Согласно теории интерцепторно-протекторного действия [2, 9] протекторный эффект КАФ в отношении ПФ должен проявляться в большей степени, чем КАФ-БЭ вследствие более высокой константы

гетероассоциации ПФ-КАФ ($K_h=160 \text{ M}^{-1}$) по сравнению с БЭ-КАФ ($K_h=62 \text{ M}^{-1}$) [9]. Полноценная проверка этой гипотезы в рамках настоящей работы не представляется возможной и составляет предмет дальнейшего специального исследования. Вместе с тем предварительные данные указывают на то, что в исследуемых системах при коротковременной экспозиции препаратов, кофеина и бактерий происходит однонаправленное ингибирование биолюминесценции под действием интеркаляторов, оказывающее наибольшее влияние именно на систему с ПФ, в то время как в системе БЭ-КАФ эффект ингибирования выражен намного слабее, что находится в согласии с предсказанием теории интерцепторно-протекторного действия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе обнаружен концентрационно-зависимый протекторный эффект действия кофеина на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1, содержащую типичные мутагенные препараты ПФ и БЭ, и заключающийся в восстановлении биолюминесцентного сигнала при введении КАФ. Эффект кофеина проявляется при различных концентрациях препаратов при остром (длительность выдержки культуры менее, либо равное 1 час) и хроническом (длительность выдержки 16 ч) действии.

Полученные данные косвенно указывают на то, что в основе наблюдаемого протекторного эффекта лежит интерцепторный механизм, обусловленный гетероассоциацией препаратов с кофеином, хорошо известный из литературных данных для других клеточных систем. Это также дает основание утверждать, что биолюминесценция нативных светящихся бактерий является показателем биологического эффекта ароматических токсических соединений и их комбинаций.

Список литературы

1. Chu E. Physicians' cancer chemotherapy drug manual / E. Chu, V.T. DeVita // L.: Jones and Bartlett Publ. – 2003. – 512 p.
2. Evstigneev M. P. DNA-binding aromatic drug molecules: Physico-chemical interactions and their biological roles / M. P. Evstigneev // Saarbrücken: Lambert Academic Publishing. – 2010. – 96 p.
3. Evstigneev M. P. Physicochemical mechanisms of synergistic biological action of combinations of aromatic heterocyclic compounds / M. P. Evstigneev // Org. Chem. Int.–2013. ID 278143-10. - Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/oci>.
4. Alleviation of mutagenic effects of polycyclic aromatic agents (quinacrine mustard, ICR-191 and ICR-170) by caffeine and pentoxifylline / J. Piosik, K. Ulanowska, A. Gwizdek-Wiśniewska, [et. al.] // Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mutagen. – 2003. – Vol. 530, № 1–2. – P. 47–57.
5. Woziwodzka A. Caffeine, pentoxifylline and theophylline form stacking complexes with IQ-type heterocyclic aromatic amines / A. Woziwodzka, A. Gwizdek-Wiśniewska, J. Piosik // Bioorg. Chem. – 2011. – Vol. 39, № 1. – P. 10–17.
6. Ramu A. The riboflavin-mediated photooxidation of doxorubicin / A. Ramu, M.M. Mehta, J. Liu, I. Turyan, A. Aleksic // Cancer Chemother. Pharmacol.–2000. – Vol.46. – P. 449-458.
7. Dashwood R. Antimutagenic potency of chlorophyllin in the Salmonella assay and its correlation with binding constants of mutagen-inhibitor complexes / R. Dashwood, D. Guo // Environ. Mol. Mutagen. – 1993. – Vol. 22, № 3. – P. 164–171.

8. Attenuation of acridine mutagen ICR-191 – DNA interactions and DNA damage by the mutagen interceptor chlorophyllin / M. Pietrzak, H. Dorota Halicka, Z. Wiczorek [et. al.] // *Biophys. Chem.* – 2008. – Vol. 135, № 1-3. – P. 69–75.
9. Quantitation of the molecular mechanisms of biological synergism in a mixture of DNA-acting aromatic drugs / M. P. Evstigneev, A. O. Lantushenko, V. P. Evstigneev, Y. V. Mykhina, D. B. Davies // *Biophys. Chem.* – 2008. – Vol. 132, № 2–3. – P. 148–158.
10. Application of the theory of interceptor and protector action on the data from the biological experiment in vitro / A. S. Buchelnikov, V. A. Rubakina, A. A. Mosunov, M. P. Evstigneev // *Biophys. Bulletin of Karazin National Univ.* – 2013. – Vol. 30, № 2. – P. 106-117.
11. Дерябин Д.Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты / Д.Г. Дерябин. – М: Наука, 2009. – 248 с.
12. Кацев А. М. Идентификация светящихся бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей / А. М. Кацев, Джон Макемсон // *Ученые записки ТНУ им. В.И. Вернадского, серия «Биология, химия».* – 2006. – Т. 19, № 4. – С. 111–116.
13. Katsev A. M. Effects of hydrogen peroxide on light emission by various strains of marine luminescent bacteria / A. M. Katsev, G. Wegrzyn, H. Szpilewska // *J. Basic Microbiol.* – 2004. – Vol. 44, № 3. – P. 178–184.
14. Agata C. Induction of light emission by luminescent bacteria treated with UV light and chemical / C. Agata, P. Konrad, G. Wegrzyn // *J. Appl. Genet.* – 2002. – Vol. 43, № 3. – P. 377-389.
15. Lewis R. J. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials.* 9th ed. / R. J. Lewis // NY: Van Nostrand Reinhold. – 1996. – Vol. 1, № 3. – P. 1027–1031.
16. Complexation of heterocyclic ligands with DNA in aqueous solution / S. F. Baranovskii, P. A. Bolotin, M. P. Evstigneev, D. N. Chernyshev // *J. Appl. Spectr.* – 2008. – Vol. 75. – P. 251–260.
17. Interaction of ethidium bromide and caffeine with DNA in aqueous solution / S.F. Baranovsky, P.A. Bolotin, M. P. Evstigneev, D. N. Chernyshev // *J. Appl. Spectr.* – 2009. – Vol. 76. – P. 132–139.
18. Traganos F. Caffeine modulates the effects of DNA-intercalating drugs in vitro: A flow cytometric and spectrophotometric analysis of caffeine interaction with novantrone, doxorubicin, ellipticine, and the doxorubicin analogue AD198 / F. Traganos, J. Kapuściński, Z. Darzynkiewicz // *Cancer Res.* – 1991. – Vol. 51, N 14. – P. 3682–3689.

Кацев А.М. Вивчення біологічної дії комбінацій ДНК-інтеркаляторів з кофеїном на люмінесцентні бактерії / А.М. Кацев, Г. Б. Скамрова, М.П. Євстигнєєв // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Биология, химия”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 186-195.

На даний час одним з перспективних напрямків розвитку медикаментозного лікування різних захворювань є комбіноване використання різних лікарських препаратів. **Мета.** Виявлення закономірностей прояву, а також пошук механізму спільного впливу комбінації ароматичних сполук на *in vitro* рівні. **Методи.** Біоломінесцентний тест на основі морських світних бактерій. **Результати.** У даній роботі виявлений концентраційно-залежний протекторний ефект дії кофеїну на біоломінесценцію культури світних бактерій *P. leiognathi* Sh1, що містить типові мутагенні препарати профлавін і бромистий етидій, і що полягає у відновленні біоломінесцентного сигналу при введенні кофеїну. **Висновки.** Отримані дані опосередковано вказують на те, що в основі спостережуваного протекторного ефекту лежить інтерцепторний механізм, обумовлений гетероасоціацією препаратів з кофеїном. Це також дає підставу стверджувати, що біоломінесценція нативних світних бактерій є показником біологічного ефекту ароматичних токсичних сполук та їх комбінацій.

Ключові слова: біоломінесцентний тест, профлавін, бромистий етидій, кофеїн, *Photobacterium leiognathi*.

**STUDY OF BIOLOGICAL ACTION OF DNA-INTERCALATORS AND
CAFFEINE COMBINATIONS ON LUMINESCENT BACTERIA**

*Katsev A.M.*¹, *Skamrova G.B.*², *Evstigneev M.P.*^{2,3}

¹ Crimean State Medical University named after S.I. Georgievskiy, Simferopol, Crimea Republic, Russia

² Sevastopol National Technical University, Sevastopol, Crimea Republic, Russia

³ Belgorod State University, Belgorod, Russia

E-mail: katsev@mail.ru

Nowadays the combined use of various drugs is one of the perspective directions in medical treatment of different diseases. Drugs based on the structure of aromatic compounds are widely used in the combined therapy of cancer diseases. One of the possible mechanism of their action is considered to be noncovalent interaction by interception way. The aim of this work was to identify regularities in manifestation as well as to search the mechanism of the joint effect of aromatic compounds combinations on the *in vitro* level.

Biological effects were studied by bioluminescent test based on the marine luminescent bacteria *Photobacterium leiognathi* Sh1 isolated from Azov Sea by authors. Separate actions of mutagenic agents proflavin and ethidium bromide as well as their combinations with caffeine were investigated. In the acute test all compounds display inhibition of bioluminescence while chronic biotest revealed multidirectional effects of them. Proflavin inhibited bacterial bioluminescence but ethidium bromide and caffeine stimulated it.

It was found a concentration-dependent protective effect of caffeine on bioluminescent culture of *P. leiognathi* Sh1 containing proflavine or ethidium bromide and manifesting itself in restoration of the bioluminescent signal on caffeine addition. Effects of caffeine were revealed at the different concentration of samples in both acute (up to 1 hour) and chronic biotesting (16 hours of bacteria growth).

Obtained data indirectly indicate that the basis for the observed protective effect is the interceptor mechanism caused by heteroassociation of the drugs with caffeine. It also enables to suggest that bioluminescence of the native luminous bacteria can be used as an indicator of biological effects of toxic and mutagenic aromatic compounds and their combinations.

Keywords: bioluminescent test, proflavine, ethidium bromide, caffeine, *Photobacterium leiognathi*.

References

1. Chu E., DeVita V.T. *Physicians' cancer chemotherapy drug manual*, 512 p. (L.: Jones and Bartlett Publ., 2003).
2. Evstigneev M. P. *DNA-binding aromatic drug molecules: Physico-chemical interactions and their biological roles*, 96 p. (Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2010).
3. Evstigneev M.P. Physicochemical mechanisms of synergistic biological action of combinations of aromatic heterocyclic compounds, *Org. Chem. Int.*, ID 278143, 10 p. (2013).
4. Piosik J., Ulanowska K., Gwizdek-Wiśniewska A., Czyż A., Kapuściński J., Węgrzyn G. Alleviation of mutagenic effects of polycyclic aromatic agents (quinacrine mustard, ICR-191 and ICR-170) by caffeine and pentoxifylline, *Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mutagen*, **530** (1–2), 47 (2003).

5. Woziwodzka A., Gwizdek-Wisniewska A., Piosik J. Caffeine, pentoxifylline and theophylline form stacking complexes with IQ-type heterocyclic aromatic amines, *Bioorg. Chem.*, **39** (1), 10 (2011).
6. Ramu A., Mehta M.M., Liu J., Turyan I., Aleksic A. The riboflavin-mediated photooxidation of doxorubicin, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **46**, 449 (2000).
7. Dashwood R., Guo D. Antimutagenic potency of chlorophyllin in the Salmonella assay and its correlation with binding constants of mutagen-inhibitor complexes, *Environ. Mol. Mutagen.*, **22** (3), 164 (1993).
8. Pietrzak M., Dorota Halicka H., Wieczorek Z., Wieczorek J., Darzynkiewicz Z. Attenuation of acridine mutagen ICR-191 – DNA interactions and DNA damage by the mutagen interceptor chlorophyllin, *Biophys. Chem.*, **135** (1-3), 69 (2008).
9. Evstigneev M. P., Lantushenko A. O., Evstigneev V. P., Mykhina Y. V., Davies D. B. Quantitation of the molecular mechanisms of biological synergism in a mixture of DNA-acting aromatic drugs, *Biophys. Chem.*, **132** (2-3), 148 (2008).
10. Buchelnikov A.S., Rubakina V.A., Mosunov A.A., Evstigneev M. P. Application of the theory of interceptor and protector action on the data from the biological experiment in vitro, *Biophys. Bulletin of Karazin National Univ.*, **30** (2), 106 (2013).
11. Deryabin D.G. *Bacterial bioluminescence: fundamental and application aspects*, 248 p. (M: Science, 2009).
12. Katsev A. M., Makemson J. Identification of luminous bacteria isolated from the Black and Azov Seas, *Sc. Notes of Taurida National V.I. Vernadsky University. Series Biol. and Chem.*, **19** (4), 111 (2006).
13. Katsev A. M., Wegrzyn G., Szpilewska H. Effects of hydrogen peroxide on light emission by various strains of marine luminescent bacteria, *J. Basic Microbiol.*, **44** (3), 178 (2004).
14. Agata C., Konrad P., Grzegorz W. Induction of light emission by luminescent bacteria treated with UV light and chemical, *J. Appl. Genet.*, **43** (3), 377 (2002).
15. Lewis, R.J. *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials. 9th ed.*, **1** (3), 1027 (NY: Van Nostrand Reinhold, 1996).
16. Baranovskii S.F., Bolotin P.A., Evstigneev M.P., Chernyshev D.N. Complexation of heterocyclic ligands with DNA in aqueous solution, *J. Appl. Spectr.*, **75**, 251 (2008).
17. Baranovsky S.F., Bolotin P.A., Evstigneev M.P., Chernyshev D.N. Interaction of ethidium bromide and caffeine with DNA in aqueous solution, *J. Appl. Spectr.*, **76**, 132 (2009).
18. Traganos F., Kapuściński J., Darzynkiewicz Z. Caffeine modulates the effects of DNA-intercalating drugs in vitro: A flow cytometric and spectrophotometric analysis of caffeine interaction with novantrone, doxorubicin, ellipticine, and the doxorubicin analogue AD198, *Cancer Res.*, **51** (14), 3682 (1991).

Поступила в редакцию 19.04.2014 г

УДК 663.236:543.06

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА КОНДИТЕРСКИХ ПОЛУФАБРИКАТОВ ИЗ ВИНОГРАДНОЙ ВЫЖИМКИ

Меметова Л.А., Брановицкая Т.Ю.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: memetova-lilya92@mail.ru*

Методом колориметрии было исследовано количественное содержание фенольных веществ и полисахаридов столовых сортов винограда, в частности, Тайфи розовый, Мускат Гамбургский, Мускат янтарный, Мускат Италия и Молдова. Установлено, что исследуемые столовые сорта винограда накапливают разные количества фенольных веществ и полисахаридов. Согласно данным работы видно, что в результате технологического процесса производства пастилы происходит уменьшение содержания фенольных веществ на 25%, а полисахаридов на 21%. Но это не оказывает отрицательного воздействия на качество получаемой продукции, а виноградное сырье не теряет своей биологической активности. Таким образом, выжимки винограда являются перспективным видом сырья для получения кондитерских полуфабрикатов.

Ключевые слова: фенольные вещества, полисахариды, виноград.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время на винодельческих предприятиях нашей страны актуальным становится вопрос переработки отходов производства, которые составляют до 20% количества перерабатываемого винограда. В связи с этим необходима разработка простых и эффективных технологий переработки отходов, в частности, виноградной выжимки.

Для кондитерской промышленности представляют интерес выжимки винограда, как источники биологически активных веществ: витаминов, макро- и микроэлементов, фенольных соединений, растительной клетчатки, органических кислот, пектиновых веществ. Химический состав виноградных выжимок аналогичен составу винограда, но только в иной пропорции [1].

Целью настоящей работы явилось научное обоснование и усовершенствование технологии производства кондитерских полуфабрикатов из выжимок винограда путем регулирования в них состава компонентов полифенольного комплекса и полисахаридов, позволяющих улучшить качество продукции и усилить её питательные свойства [2].

Для достижения поставленной цели были детально рассмотрены и изучены фенольные соединения и полисахариды винограда, их свойства и биологическая активность. Апробированы основные методы определения фенольных веществ и полисахаридов в винограде при различных технологических приемах приготовления пастилы и на различных стадиях производства [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились столовые сорта винограда: Тайфи розовый, Мускат Гамбургский, Мускат янтарный, Мускат Италия и Молдова [4].

Определение технологического запаса фенольных веществ в винограде. В сусле определяют сумму фенольных веществ по методу Фолина-Чокальтеу. Метод основан на использовании реактива Фолина-Чокальтеу, который состоит из смеси фосфорновольфрамовой $H_3PW_{12}O_{40}$ и фосфорномолибденовой $H_3PMo_{12}O_{40}$ кислот, и при добавлении в вино окисляет в щелочной среде фенольные группы, восстанавливаясь при этом до смеси оксидов W_8O_{23} и Mo_8O_{23} , окрашенных в голубой цвет. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации фенольных веществ. Измеряют интенсивность окрашивания на фотоэлектроколориметре при длине волны 670 нм [5].

Определение массовой концентрации красящих веществ (антоцианов) заключается в стабилизации окраски суслу подкисленным до pH 1–2 этиловым спиртом и последующем определении оптической плотности при длине волны 530 нм.

Определение массовой концентрации полисахаридов основано на осаждении полисахаридов этиловым спиртом, растворении полученного осадка, взаимодействии растворимых полисахаридов с фенол–серным реактивом с образованием окрашенных соединений, определяемых колориметрически при длине волны 490 нм [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы роли фенольных соединений придается все большее значение, так как отмечаются благоприятные эффекты их воздействия в предотвращении или уменьшении риска развития дегенеративных процессов у человека, таких как сердечно-сосудистые заболевания, диабет, ожирение, рак [6]. Результаты, полученные по изучению технологического запаса фенольных соединений в винограде и продуктах его переработки представлены на рисунке 1.

Видно, что у столовых сортов (рис.1): Тайфи розовый, Мускат Италия, Мускат Гамбургский, Молдова и Мускат янтарный в результате технологических процессов происходит уменьшение содержания фенольных веществ в конечном продукте на 25% и составляет 969 мг/дм^3 у сорта Тайфи розовый, 643 мг/дм^3 у сорта Мускат Италия, 1116 мг/дм^3 у сорта Мускат Гамбургский, 1180 мг/дм^3 у сорта Молдова и 633 мг/дм^3 у сорта Мускат янтарный.

Полисахариды винограда представлены пектиновыми веществами, гемицеллюлозой и целлюлозой. Общее содержание полисахаридов и его различных фракций в винограде вида *Vitis vinifera* в период технической зрелости обусловлено сортовыми особенностями и экологические условиями его выращивания. Полисахариды играют существенную роль в обмене веществ у растений и животных, они важны для питания человека и кроме того, широко используются во многих областях хозяйства [7]. Результаты, полученные по изучению технологического запаса полисахаридов в винограде и продуктах его переработки, представлены на рисунке 2.

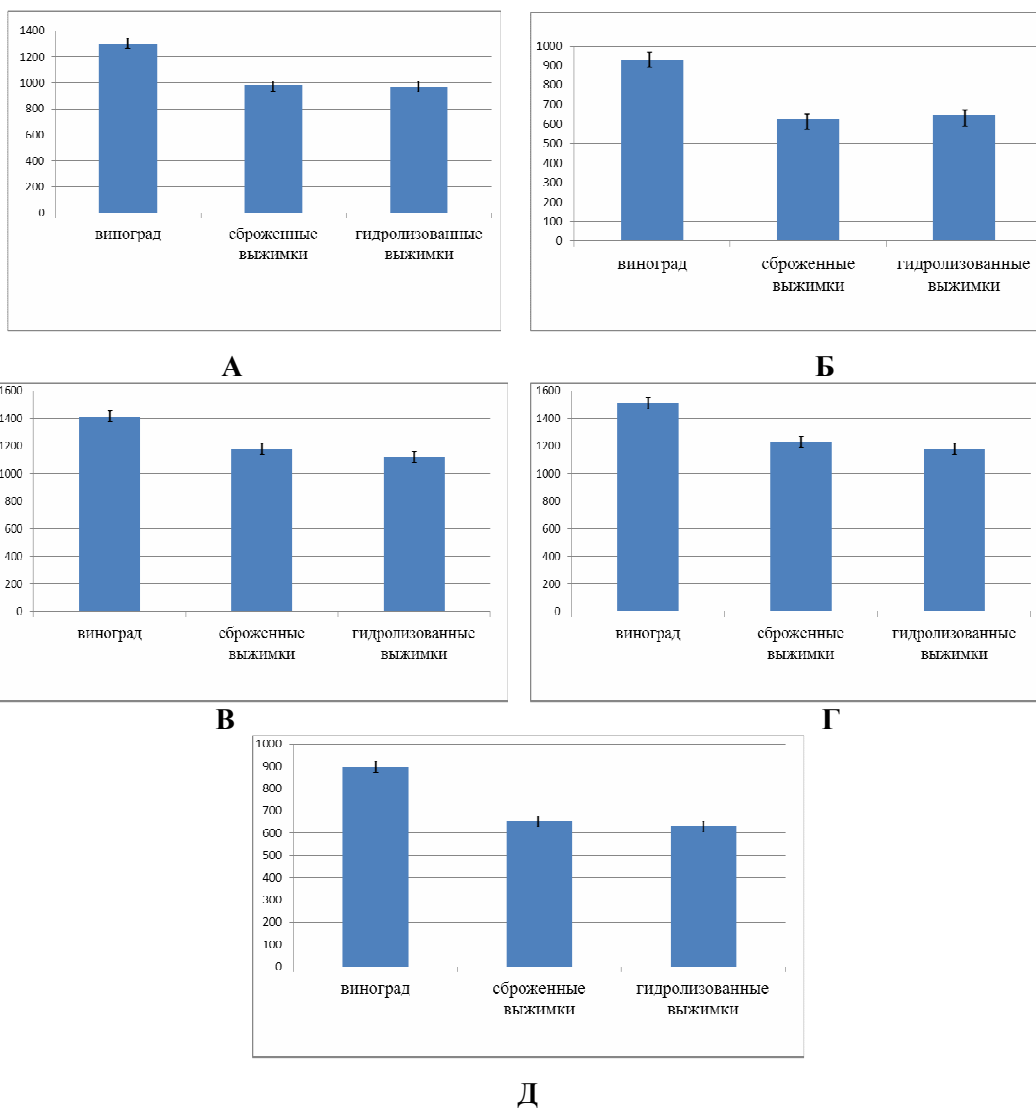


Рис. 1. Технологический запас фенольных соединений в винограде и выжимках сортов Тайфи розовый (А), Мускат Италия (Б), Мускат Гамбургский (В), Молдова(Г) и Мускат янтарный (Д) в мг/дм³.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ...

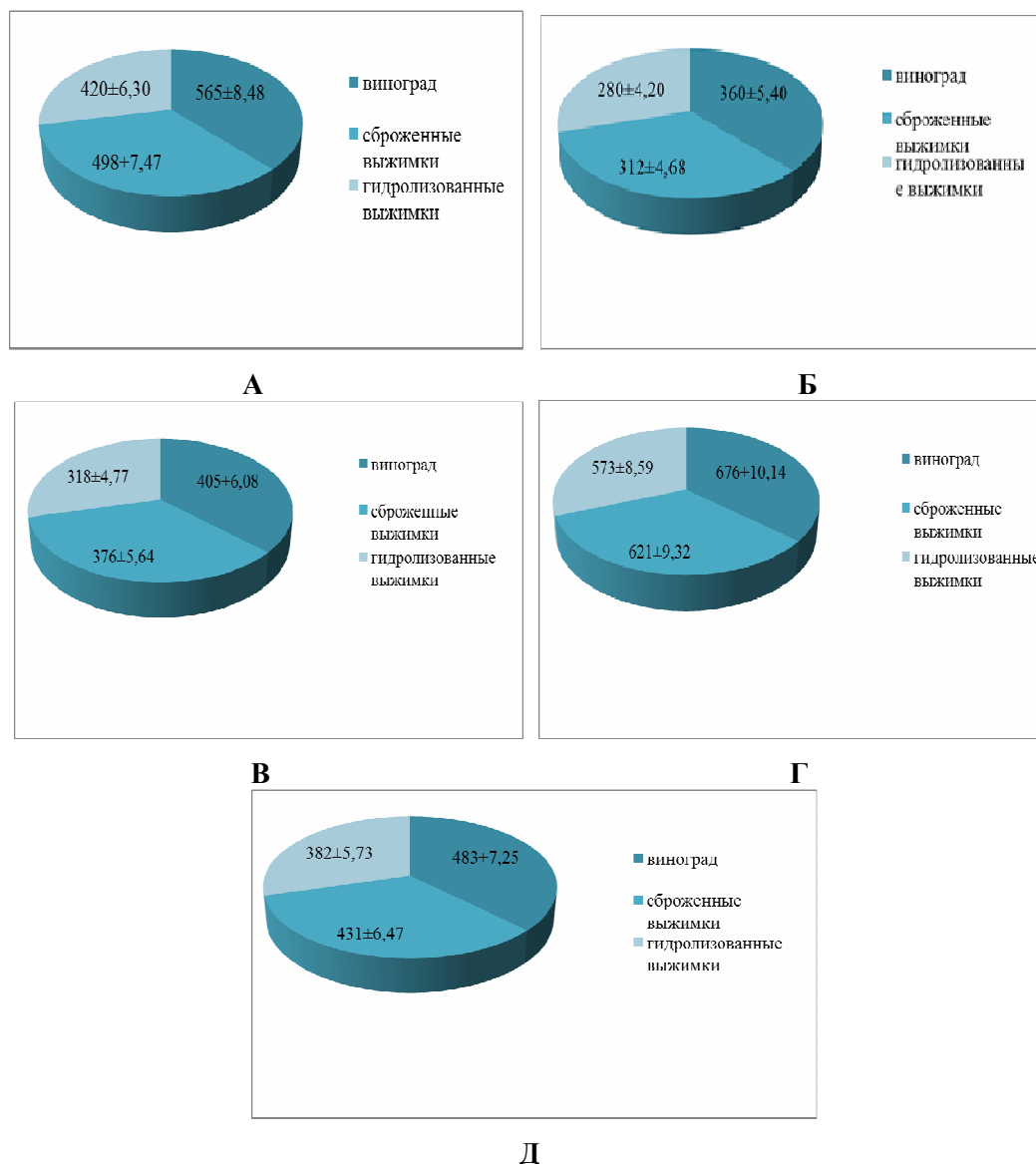


Рис. 2. Технологический запас полисахаридов в винограде и выжимках сортов Мускат Гамбургский (А), Мускат Италия (Б), Мускат янтарный (В), Молдова (Г), Тайфи розовый (Д) в мг/дм³.

Так, из полученных данных видно, что у исследуемых сортов в результате технологических процессов происходит снижение содержания полисахаридов в конечном продукте по сравнению к свежему винограду на 21% и составляет 420 мг/дм³ для сорта Мускат Гамбургский, 280 мг/дм³ для сорта Мускат Италия, 318 мг/дм³ для сорта Мускат янтарный, 573 мг/дм³ для сорта Молдова и 382 мг/дм³ для

сорта Тайфи розовый. Соответственно, максимальное содержание полисахаридов наблюдается у сорта Молдова а наименьшее – у Мускат Италия.

Очевидно, что на качество и вкус винограда влияет большое количество компонентов. Из полученных данных видно, что происходит снижение фенольных веществ и полисахаридов, но это не влияет на дальнейшее использование винограда, и он не теряет своих биологических свойств. Установлено, что исследуемые столовые сорта винограда накапливают неодинаковое количество фенольных веществ и полисахаридов. Таким образом, выжимки винограда являются перспективным видом сырья для получения кондитерских полуфабрикатов. Основная проблема, которая возникает при использовании выжимок – их высокая влажность и необходимость быстрой переработки, чтобы исключить возможность развития плесневых грибов и предотвратить порчу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что виноград является ценной культурой для получения фенольных веществ и пектинов.
2. Установлено, что в результате технологических процессов происходит уменьшение содержания фенольных и красящих веществ, что не снижает питательную ценность получаемого продукта.
3. Показано, что в красных сортах винограда содержание полисахаридов на 40% выше, чем в белых.

Список литературы

1. Наумова Л.Г. Биохимическая и диетическая характеристика столового винограда. / Л.Г. Наумова // Виноделие и виноградарство. – 2004. – № 1. – С. 36–38.
2. Троицкий Б.Н. Фруктовые начинки для хлебобулочных и кондитерских изделий. / Б.Н. Троицкий, В.В. Письменный, А.И. Черкашин, Ю.Ю. Нецвет // Хлебопечение России. – 2004. – № 1. – С. 25–26.
3. Косюра В.Т. Основы виноделия. / В.Т. Косюра, Л.В. Донченко, В.Д. Надькта. – М.: ДеЛиПринт, 2004. – 440 с.
4. Негруль А. М. Ампелография с основами виноградарства: учеб. пособие для технологических вузов / А. М. Негруль, Л. Н. Гордеева, Т. И. Калмыкова. — М.: Высшая школа, 1979. – 302 с.
5. Гержикова В.Г. Методы технокимического контроля в виноделии / В.Г. Гержикова. – Симферополь: Таврида, 2001. – 624 с.
6. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений: учеб. пособие. / М.Н. Запрометов. – М.: Высшая школа, 1974. – 216 с.
7. Сапожникова Е.В. Химия углеводов. / Е.В. Сапожникова. – М.: Наука, 1967. – 740 с.

Меметова Л.А. Удосконалення технології виробництва кондитерських напівфабрикатів з виноградної вичавки / Л.А. Меметова, Т.Ю. Брановицька // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 196-201.

Методом колориметрії був досліджений кількісний зміст фенольних речовин і полісахаридів столових сортів винограду, зокрема, Тайфи рожевий, Мускат Гамбурзький, Мускат бурштиновий, Мускат Італія й Молдова. Встановлено, що досліджувані сорти винограду накопичують різну кількість фенольних речовин і полісахаридів. Згідно даним роботи видно, що в результаті технологічного процесу виробництва пастили відбувається зменшення змісту фенольних речовин на 25%, а полісахаридів на 21%. Але це не виявляє негативного впливу на якість одержуваної продукції, а виноградна сировина

не втрачає своєї біологічної активності. Таким чином, вичавки винограду є перспективним видом сировини для одержання кондитерських напівфабрикатів.

Ключові слова: фенольні речовини, полісахариди, виноград.

THE IMPROVEMENT OF PRODUCTION TECHNOLOGY OF CONFECTIONERY SEMI-FINISHED PRODUCTS FROM THE GRAPE PRESSING

Memetova L.A., Branovitskaya T.Yu.

*Taurida V.I. Vernadskiy National University, Simferopol, Crimea Republic, Russia
E-mail: memetova-lilya92@mail.ru*

Phenolic connections it is biologically active agents with radio tire-tread, anti-beam, bactericidal, antioxidant, anti-sclerous, neurostimulating, toning and other functional properties. In berries of grapes various carbohydrates meet. Polysaccharides, oligosaccharides and monosaccharides concern to them. Polysaccharides call the carbohydrates which molecule at hydrolysis breaks up with formation of molecules of monosaccharides. Carbohydrates and products of their biochemical reactions considerably influence taste, color, aroma and stability of jam. The quantitative content of phenolic substances and polysaccharides of table grades of grapes, in particular, Tayfi pink, the Muscat Hamburg, the Muscat amber, the Muscat Italy and Moldova was investigated by photocolometry method. It is established that studied table grades of grapes accumulate unequal amount of phenolic substances and polysaccharides. According to data, it is visible that technological process of production of a fruit candy is resulted by reduction of the content of phenolic substances by 25%, and polysaccharides for 21%. But it doesn't make negative impact on quality of received production, thus the grape raw materials don't lose the specific properties. Thus, a residue of grapes is a perspective view of raw materials for receiving confectionery semi-finished products.

Keywords: phenolic substances, polysaccharides, grapes.

References

1. Naumova L.G., *Biokhimicheskaya and dietary characteristic of table grapes*, **1**, 36 p. (Winemaking and wine growing, 2004). (in Russ.)
2. Troitsk B. N., Pismenny V. V., Cherkashin A.I., Netsvet Yu. Yu., Fruit stuffings for bakery and confectionery, *Bread baking of Russia.*, **1**, 25 (2004). (in Russ.)
3. Kosyura V. T., Donchenko L.V., Nadykta V.D., Fundamentals of winemaking, *Put a print*, 440 (2004). (in Russ.)
4. Negrul A. M., Gordeyeva L. N., Kalmykova T. I., Ampelografiya with wine growing bases: studies. grant for technological higher education institutions, *The higher school*, 302 (1979). (in Russ.)
5. Gerzhikova V. G., *Methods of tekhnokhimicheskyy control in winemaking*, 624 p (Century of G. Gerzhikov, Simferopol: Taurida, 2001). (in Russ.)
6. Zaprometov M. N., *Fundamentals of biochemistry of phenolic connections: studies. Grant*, 216 p. (The higher school, 1974). (in Russ.)
7. Sapozhnikova E.V., *Himiya of carbohydrates*, 740 p (Science, 1967). (in Russ.)

Поступила в редакцию 29.04.2014 г

УДК 546.722 + 546.762 + 546.47 + 547.288.3

КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ 3d-МЕТАЛЛОВ С ГИДРАЗОНОМ ПИРИДИНКАРБАЛЬДЕГИДА И 3-АМИНО-1,2,4- ТРИАЗОЛИЛ-5-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Певзнер Н.С., Гусев А.Н., Старикова А.И., Шульгин В.Ф.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Республика
Крым, Российская Федерация
E-mail: pevzner.nata@gmail.com*

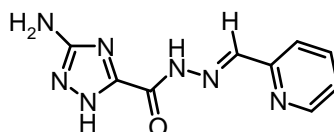
Описаны синтез и строение комплексов железа(II), меди(II) и цинка с гидразоном пиридинкарбальдегида и 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновой кислоты (L) следующего состава: $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$ и $[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Состав и строение соединений установлены по данным элементного и термогравиметрического анализа, а также ИК-спектроскопии. Строение комплекса железа изучено методом рентгеноструктурного анализа.

Ключевые слова: железо, медь, цинк, 1,2,4-триазолил-5-карбоновая кислота.

ВВЕДЕНИЕ

Триазолы и их координационные соединения широко используются как фармацевтические препараты и средства защиты растений [1]. В последние десятилетия возрос интерес исследователей к координационной химии производных 1,2,4-триазола, которые могут проявлять разные способы координации, что обеспечивает разнообразие строения и свойств комплексов на их основе. Так, на основе производных триазола синтезированы координационные соединения железа(II), для которых зарегистрированы спиновые переходы при комнатной температуре, что делает их перспективными материалами при создании систем хранения информации [2, 3].

Целью настоящей работы является изучение состава и особенностей строения координационных соединений железа(II), меди(II) и цинка с гидразоном пиридинкарбальдегида и 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновой кислоты (L).



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованная в качестве исходного соединения 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновая кислота получена по литературной методике [4]. Гидразид 3-амино-

1,2,4-триазол-5-карбоновой кислоты был синтезирован следующим образом. К суспензии 3,84 г (0,03 моль) 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновой кислоты в 100 мл метанола добавили по каплям 3,57 г (0,03 моль) SOCl_2 . Полученную смесь кипятили 4 часа при перемешивании, затем отогнали 40 мл MeOH , а остаток вылили в воду и нейтрализовали раствором ацетата натрия до $\text{pH}=5-6$. Осадок отделили фильтрованием и высушили на воздухе. Эфир кислоты (3,55 г, 0,025 моль) суспензировали в 100 мл метанола, добавили двукратный избыток гидразин-гидрата, кипятили в течение 2 часов и охладили. Выделившийся продукт отфильтровали, промыли этанолом и высушили на воздухе.

Гидразид 3-амино-1,2,4-триазол-5-карбоновой кислоты массой 2,84 г (0,02 моль) растворили в 30 мл кипящей воды. В полученный раствор добавили 2,35 г (0,022 моль) пиридинкарбальдегида в 10 мл этанола. Смесь кипятили в течение 30 минут, охладили и оставили на 12 часов. Образовавшийся продукт отфильтровали, промыли 96%-ным этанолом и высушили на воздухе. Выход целевого продукта составил 80% от теоретически возможного.

Идентификация лиганда осуществлена методом ПМР-спектроскопии. Спектры записаны на спектрометре *Varian A-400* с использованием DMSO-D_6 в качестве растворителя и тетраметилсилана в качестве стандарта.

Синтез координационных соединений. К суспензии 1,00 г (4,3 ммоль) гидразона в 20 мл 96%-ного этилового спирта добавили 2,15 ммоль соответствующей соли. Полученный раствор перемешивали в течение 30 мин. и оставляли на сутки. Образовавшийся осадок отделили фильтрованием, промыли этиловым спиртом и высушили на воздухе. Получены мелкокристаллические вещества: желтого цвета для комплекса цинка, зеленого - для соединения меди, красного - для соединения железа. Выход продуктов составил 75–85% от теоретически возможного.

Методы исследования. Состав и строение соединений установлены на основании данных элементного и термогравиметрического анализа, а также ИК-спектроскопии и рентгеноструктурного анализа.

Элементный анализ на углерод, азот и водород выполнен микрометодом в аналитической лаборатории Института органической химии НАН Украины. Содержание цинка и меди определяли трилометрическим титрованием.

ИК-спектры образцов, спрессованных с KBr , исследовали в диапазоне 4000-400 cm^{-1} на Фурье-спектрофотометре *Nicolet Nexus 470*.

Термогравиграммы получены на Q-дерииватографе системы *Паулик-Паулик-Эрдей* в статической воздушной атмосфере, скорость нагревания 10 К/мин, держатель образца - керамический тигель без крышки, эталон - прокаленный оксид алюминия.

Монокристаллы комплекса $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$ выращены перекристаллизацией из смеси вода-этанол. Рентгеноструктурный анализ выполнен на дифрактометре *Bruker Smart APEX II*, оборудованном CCD детектором и источником монохромного излучения ($\text{Mo-K}\alpha$, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$, графитовый монохроматор) с использованием стандартной процедуры [5]. Структура расшифрована прямым методом и уточнена в полноматричном анизотропном приближении для всех неводородных атомов.

Атомы водорода при атомах углерода органического лиганда генерированы геометрически и уточнены в модели «наездника». Расчеты проведены с использованием программ SHELXL97 [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено, что взаимодействие сульфатов железа(II), меди(II) и цинка с гидразоном пиридинкарбальдегида и 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновой кислоты (L) в водно-этанольном растворе приводит к координационным соединениям, состав которых по данным элементного и термического анализа отвечает формулам $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$ и $[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Данные элементного анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1

Состав и данные элементного анализа синтезированных координационных соединений

Соединение	Найдено, %				Вычислено, %			
	С	Н	Н	М	С	Н	Н	М
$[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$	34,98	3,15	32,05	-	35,19	2,98	31,93	-
$[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$	30,08	3,71	-	13,5	30,24	3,44	-	14,5
$[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	27,40	3,67	-	14,7	27,82	4,00	-	13,8

По данным термогравиметрического анализа процесс десольватации комплекса меди(II) происходит в интервале от 60°C до 190°C с эндотермическим эффектом при 110°C и потерей 12% массы образца, что соответствует отщеплению двух молекул этанола на формульную единицу. Термоокислительная деструкция лиганда происходит в интервале 200–430°C и сопровождается экзотермическим эффектом с максимумом на кривой ДТА при 270°C. Последующий процесс выгорания органического остатка сопровождается широким экзотермическим эффектом с максимумом при 580°C и завершается при 700°C.

Десольватация комплекса цинка завершается при температуре 200°C и сопровождается четко выраженными эндотермическими эффектами с минимумами на кривой ДТА при 130°C и 180°C. При этом на кривой ТГ проявляются две ступени: первая отвечает потере 9%, массы образца, вторая – 16%. Изменение массы соответствует отщеплению двух молекул этанола на первом этапе десольватации и четырех молекул воды - на втором. При температуре 270°C начинается плавление образца, сопровождающееся разложением с максимумом на кривой ДТА при 300°C. Повышение температуры до 770°C приводит к медленной потере массы, вызванной выгоранием органического остатка. Процесс сопровождается экзотермическими эффектами с максимумами на кривой ДТА при 500–700°C.

Известно, что производные 1,2,4-триазола могут выполнять в координационных соединениях мостиковую функцию, что часто приводит к образованию полиядерных комплексов [7]. Способность к мостиковому связыванию особенно усиливается при введении заместителей с дополнительными донорными группами. В настоящей работе строение координационных соединений и способ координации гидразона пиридинкарбальдегида и 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновой кислоты были исследованы с привлечением метода ИК-спектроскопии и рентгеноструктурного анализа комплекса железа. В связи с низким качеством монокристаллов не удалось расшифровать структуру с высоким уровнем точности. Тем не менее, полученные данные позволили однозначно определить строение координационного полиэдра. Общий вид комплекса представлен на рис. 1, наиболее важные длины связей и валентные углы сведены в таблице 2.

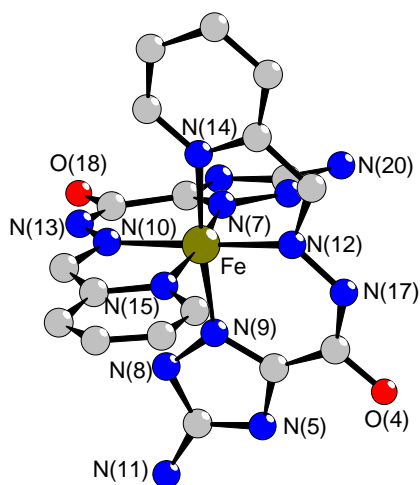


Рис. 1. Строение комплексного катиона соединения $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$.

Таблица 2

Длины связей (d) и валентные углы (ω) в координационном полиэдре $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$

Связь	$d, \text{Å}$	Угол	$\omega, \text{град.}$	Угол	$\omega, \text{град.}$
Fe–N(7)	1,889(16)	N(7)FeN(12)	94,6(7)	N(12)FeN(14)	83,5(6)
Fe–N(9)	1,888(15)	N(7)FeN(9)	88,6(6)	N(9)FeN(14)	173,3(6)
Fe–N(10)	1,927(15)	N(12)FeN(9)	90,3(6)	N(10)FeN(14)	94,0(6)
Fe–N(12)	1,919(14)	N(7)FeN(10)	87,0(7)	N(7)FeN(15)	170,7(7)
Fe–N(14)	1,952(15)	N(12)FeN(10)	177,0(7)	N(12)FeN(15)	94,6(7)
Fe–N(15)	1,968(16)	N(9)FeN(10)	92,3(6)	N(9)FeN(15)	91,8(6)

Координационный полиэдр катиона железа(II) имеет геометрию, близкую к октаэдрической и образован атомами азота триазольного и пиридинского фрагментов, а так же атомами азота азометиновой группировки двух молекул

лиганда. Карбонильные атомы кислорода не координированы. Атомы азота азометиновых групп двух лигандов (N(10) и N(12)) занимают транс-положение в координационной сфере, угол N(10)FeN(12) составляет $\sim 177^\circ$. Каждая молекула лиганда формирует практически компланарный хелатный узел, состоящий из двух конденсированных хелатных циклов:

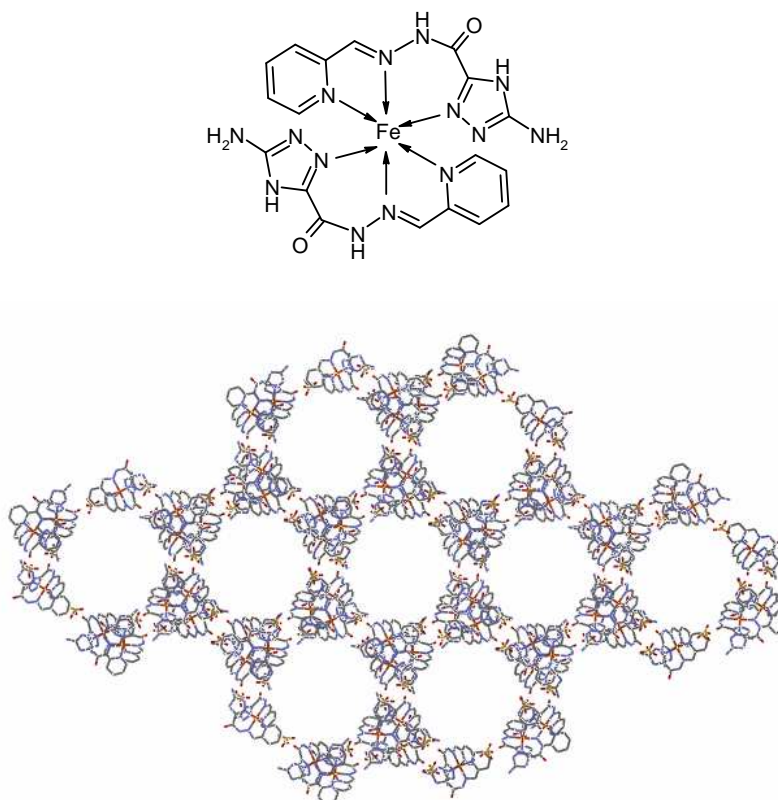


Рис. 2. Фрагмент кристаллической решетки соединения $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$.

Донорные атомы азота триазольного и пиридинного фрагментов расположены в экваториальной плоскости и в каждой координированной молекуле гидразона составляют с центральным атомом углы, близкие к 180° : N(7)FeN(15) $\sim 171^\circ$, N(9)FeN(14) $\sim 173^\circ$. Остальные валентные углы внутри координационного полиэдра близки к 90° . Длины связей азот-углерод и углерод-углерод пиридинного и триазольного циклов лиганда имеют обычные значения и изменяются в пределах 1,31–1,47 Å [8]. Длины связей азот-углерод и углерод-углерод в хелатном узле лиганда изменяются в тех же пределах (1,29–1,47 Å) и близки к длинам связей в азотсодержащих гетероциклах и графите (1,339–1,421 Å) [9]. Это свидетельствует о делокализации двойных связей с образованием сопряженной π -системы. Плоскости хелатного металлоцикла и циклических фрагментов органического лиганда компланарны.

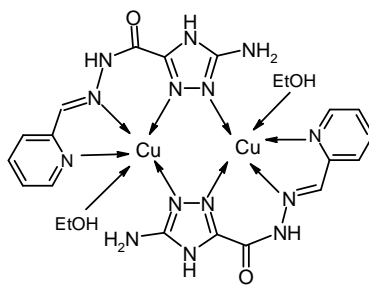
Сульфат-анионы связаны с катионным комплексом за счет сил электростатического взаимодействия. Способ упаковки комплексов железа в кристалле приводит к образованию структуры, пронизанной каналами (рис. 2).

С целью определения способа координации лиганда были исследованы ИК-спектры свободного лиганда и комплексов на его основе. Отнесение полос выполнено с использованием характеристических частот колебаний органических радикалов и функциональных групп [10, 11]. В таблице 3 представлены положения максимумов некоторых полос поглощения в ИК-спектрах исследуемых координационных соединений и пролиганда.

Таблица 3
Наиболее информативные полосы поглощения (ν_{\max} , см^{-1}) в ИК-спектрах исследуемых координационных соединений и пролиганда

Соединение	«амид I»	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{SO}_4^{2-})$
L	1686	1654	-
$[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$ (I)	1678	1641	1091–1016
$[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$ (II)	1696	1652	1114–1050
$[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (III)	1686	1650	1118–1062

Полоса «амид-I» свободного гидразона регистрируется при 1686 см^{-1} . При образовании координационных соединений положение данной полосы практически остается неизменным. Валентные колебания связи $\text{C}=\text{N}$ гетероциклических фрагментов и азометиновой группы пролиганда проявляются при 1654 см^{-1} . При координации происходит увеличение интенсивности этой полосы поглощения. Для комплекса I полоса валентных колебаний связи $\text{C}=\text{N}$ смещается в низкочастотную область на 13 см^{-1} , тогда как для соединений меди и цинка смещения не наблюдается. Этот факт можно объяснить тем, что в комплексах меди и цинка триазольный гетероцикл координирован симметрично через атомы азота в первом и втором положениях, выполняя мостиковую функцию.



На основании литературных данных [12, 13] можно предположить, что комплексы $[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$ и $[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ имеют биядерную структуру, в которой органический лиганд связывает два катиона металла.

В ИК-спектрах всех синтезированных координационных соединений регистрируется очень интенсивная широкая полоса в области $1016\text{--}1118\text{ см}^{-1}$, которая может быть приписана валентным колебаниям некоординированного сульфат-аниона. Валентные колебания гидроксильных групп молекул воды и спирта наблюдаются в виде уширенных полос в области $3300\text{--}3200\text{ см}^{-1}$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что координационные соединения гидразона пиридинкарбальдегида и 3-амино-1,2,4-триазолил-5-карбоновой кислоты (L) с сульфатами железа, меди и цинка имеют следующий состав: $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$, $[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Изучены особенности молекулярного строения катионного комплекса железа. Установлено, что гидразон координирован через атомы азота триазольного и пиридинского фрагментов, а так же азометиновой группировки с образованием двух конденсированных пяти- и шестичленного хелатных циклов.

В координационных соединениях цинка и меди(II) органический лиганд, по-видимому, реализует мостиковую функцию за счет атомов азота в первом и втором положениях триазольного фрагмента, формируя биядерные комплексы.

Список литературы

1. Triazoles and tetrazoles: Prime ligands to generate remarkable coordination materials / G. Aromia, L.A. Barriosa, O. Roubeaub [et al.] // *Coord. Chem. Rev.* - 2011. - Vol. 255. - P. 485–546.
2. Spin-crossover in the $[\text{Fe}(\text{abpt})_2(\text{NCX})_2]$ (X = S, Se) system: structural, magnetic, calorimetric and photomagnetic studies / N. Moliner, M. C. Munoz, S. Letard [et al.] // *Inorg. Chim. Acta.* – 1999. – Vol. 291. - P. 279–288.
3. Iron complexes of 3-(pyrazinyl)-1,2,4-triazole ligands / F. E. Bradford, L. P. Connor, C. A. Kilner [et al.] // *Polyhedron.* – 2004. – Vol. 23. – P. 2141–2151.
4. Препаративная органическая химия / под общ. ред. Н.С. Вульфсона; пер. с польского. - Москва: Госхимиздат, 1959. – С. 764.
5. SMART (Control) and SAINT (Integration) Software, ver. 5.0. Bruker AXS Inc., Madison(WI), 1997.
6. Sheldrick G.M. SHELXL97, Program for the Refinement of Crystal Structures. Gottingen: Univ. of Gottingen (Germany), 1997.
7. Haasnoot J. G. Mononuclear, oligonuclear and polynuclear metal coordination compounds with 1,2,4-triazole derivatives as ligand / J. G. Haasnoot // *Coord. Chem. Rev.* – 2000 - Vol. 200–202. - P. 131–185.
8. Allen F. H. Tables of lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds / F. H. Allen, O. Kennard, D. G. Watson [et al.] // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* – 1987. – Pt. 2. – № 12. – S. 1–19.
9. Гордон А. Спутник химика. / А. Гордон, Р. Форд // М: Мир, 1976. – 542 с.
10. Nakamoto K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part A: Theory and Application in Inorganic Chemistry / K. Nakamoto // - New Jersey: Hoboken, 2009. – 419 p.
11. Nakamoto K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part B: Application in Coordination Organometallic and Bioinorganic Chemistry / K. Nakamoto // - New Jersey: Hoboken, 2009. – 408 p.
12. New Zn complexes based on 1,2,4-triazoles: Synthesis, structure and luminescence / A.N. Gusev, V.F. Shul'gin, O.V. Konnic [et al.] // *Inorg. Chim. Acta.* – 2011. - Vol. 376. - P. 509–514.

13. Zinc Complexes with 3-Pyridinyl-5-(2-salicylideneiminophenyl)-1H-1,2,4-triazoles / A.N. Gusev, V.F. Shulgin, S. B. Meshkova [et al.] // Russ. J. Inorg. Chem. – 2011. - Vol. 56, No. 1. - P. 32–38.

Певзнер Н.С. Координаційні сполуки деяких 3d-металів з гідразоном піридинкарбальдегіду і 3-аміно-1,2,4-триазоліл-5-карбонової кислоти / Н.С. Певзнер, О.М. Гусев, О.І. Старікова, В.Ф. Шульгін // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 202-210.

Описано синтез та будову комплексів феруму(II), купрум(II) і цинку з гідразоном піридинкарбальдегіду і 3-аміно-1,2,4-триазоліл-5-карбонової кислоти (L) такого складу: $[\text{FeL}_2]\text{SO}_4$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$ і $[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Склад та будову сполук встановлено за даними елементного і термогравіметричного аналізу, а також ІЧ-спектроскопії. Будову комплексу феруму досліджено методом рентгеноструктурного аналізу.

Ключові слова: ферум, купрум, цинк, 1,2,4-триазоліл-5-карбонова кислота.

COORDINATION COMPOUNDS OF SOME 3D-METALS WITH PYRIDINECARBALDEHYDE AND 1,2,4-TRIAZOLIL-5-CARBOXYLIC ACID HYDRAZON

Pevzner N.S., Gusev A.N., Starikova A.I., Shul'gin V.F.

Tavrida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea Republic, Russia

E-mail: pevzner.nata@g.mail.com

Triazoles and their coordination compounds are widely used as pharmaceuticals and pesticides. In recent decades, increased interest of researchers in the coordination chemistry of 1,2,4-triazole that can exhibit different modes of coordination and provides a variety of structures and properties of complexes based on them. Thus, based on triazole derivatives synthesized coordination compounds of iron(II), which account for the spin transitions at room temperature, which makes them promising materials in creating the storage information. The aim of this work is to study the composition and structure of coordination compounds of iron(II), copper(II) and zinc pyridinecarbaldehyde hydrazone and 3-amino-1,2,4-triazole-5-carboxylic acid (L). It was found that interaction of iron(II), copper(II) and zinc sulfates with pyridinecarbaldehyde and 3-amino-1,2,4-triazolyl-5-carboxylic acid hydrazone (L) leads to coordination compounds with the composition $[\text{FeL}_2] \text{SO}_4$, $[\text{Cu}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2$ and $[\text{Zn}_2\text{L}_2 \cdot 2\text{EtOH}](\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ according to elemental thermal analysis.

The structure of the coordination compounds and coordination modes of pyridinecarbaldehyde and 3-amino-1,2,4-triazolyl-5-carboxylic acid hydrazone were investigated at IR-spectroscopy and X-ray diffraction analysis of the iron complex. Due to the low quality of single crystals could not solution the structure with a high level of accuracy, however, the data obtained allowed unambiguously determine the structure of the coordination polyhedron. The iron(II) cation polyhedron has a geometry close to octahedral that formed at nitrogen atoms of the triazole and pyridyl moieties as well as nitrogen atoms of azomethine groups of two molecules of ligand. Carbonyl oxygen atoms are not coordinated. Nitrogen atoms of the two groups azomethine ligands occupy trans-

position in the coordination sphere, the angle N-Fe-N is $\sim 177^\circ$. Each ligand molecule generates almost coplanar chelate unit consist of two fused chelate rings.

Nitrogen atoms of the triazole and pyridyl fragments located in the equatorial plane and in each of the hydrazone molecule coordinated to the central atom constitute angles close to 180° : N(7)-Fe-N(15) $\sim 171^\circ$, N(9)FeN(14) $\sim 173^\circ$. The rest of the bond angles in the coordination polyhedron are close to 90° . Bond lengths nitrogen-carbon and carbon-carbon pyridyl and triazole ligands are conventional cycles and changing values within 1.31-1.47 Å. Bond lengths nitrogen-carbon and carbon-carbon bonds in the chelate ligand site vary in the same range (1.29-1.47 Å) and close to the bond lengths in the nitrogen-containing heterocycles and graphite (1.339-1.421 Å). This testifies to the delocalization of the double bonds to form a π -conjugated system. Chelate metal cycle plane and cyclic organic ligand fragments are coplanar. The sulfate anions associated with the cationic complex through electrostatic interaction forces. A packaging of complexes in the crystal structure results in the formation penetrated by channels. The organic ligand apparently scores bridging function by nitrogen atoms in the first and second positions of the triazole moiety to forms binuclear complexes in coordination compounds of zinc and copper(II).

Keywords: iron, cooper, zinc, 1,2,4-triazolyl-5-carboxylic acid.

Reference

1. Aromi G., Barrios L.A., Roubeau O., Gamez P., Triazoles and tetrazoles: Prime ligands to generate remarkable coordination materials, *Coord. Chem. Rev.*, **255**, 485 (2011).
2. Moliner N., Munoz M. C., Letard S., Letard J.-F., Solans X., Burrill R., Castro M., Kahn O., Real J.A., Spin-crossover in the $[\text{Fe}(\text{abpt})_2(\text{NCX})_2]$ (X = S, Se) system: structural, magnetic, calorimetric and photomagnetic studies, *Inorg. Chim. Acta*, **291**, 279 (1999).
3. Bradford F. E., Connor L. P., Kilner C. A., Halcrow M.A., Iron complexes of 3-(pyrazinyl)-1,2,4-triazole ligands, *Polyhedron*, **23**, 2141 (2004).
4. *Preparativnaya organicheskaya khimiy*, edited by Vulfson N.S., 888 p. (Goskhimizdat, Moskva: 1959). (in Russ.)
5. *SMART (Control) and SAINT (Integration) Software*, ver. 5.0. Bruker AXS Inc., (Madison(WI), 1997).
6. Sheldrick G.M., *SHELXL97, Program for the Refinement of Crystal Structures*, (Univ. of Gottingen, Gottingen, 1997).
7. Haasnoot J. G., Mononuclear, oligonuclear and polynuclear metal coordination compounds with 1,2,4-triazole derivatives as ligand, *Coord. Chem. Rev.*, **200–202**, 131 (2000).
8. Allen F. H., Kennard O., Watson D. G., Brammer L., Orpen A.G., Taylor R., Tables of lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **2 12**, 1 (1987).
9. Gordon A., Ford R., *Spytnik khimika*, 542 p., (Mir, Moskva, 1976). (in Russ.)
10. Nakamoto K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part A: Theory and Application in Inorganic Chemistry*, 419 p., (Hoboken, New Jersey, 2009).
11. Nakamoto K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part B: Application in Coordination Organometallic and Bioinorganic Chemistry*, 408 p., (Hoboken, New Jersey, 2009).
12. Gusev A. N., Shul'gin V. F., Konnic O. V., Meshkova S. B., Aleksandrov G. G., Kiskin M. A., Eremenko I. L., Linert W., New Zn complexes based on 1,2,4-triazoles: Synthesis, structure and luminescence, *Inorg. Chim. Acta*, **376**, 509 (2011).
13. Gusev A. N., Shul'gin V. F., Meshkova S. B., Topilova Z. M., Riskin M. A., Aleksandrov G. G., Eremenko I. L., Zinc Complexes with 3-Pyridinyl-5-(2-salicylideneiminophenyl)-1H-1,2,4-triazoles, *Russ. J. Inorg. Chem.*, **56 1**, 32 (2011).

Поступила в редакцию 23.04.2014 г.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Абдуллаев
Али Ахтемович** Сакский центральный военный клинический санаторий им. Пирогова. Лаборант
- Амжад Хамдаллах** Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, аспирант кафедры биологической химии, e-mail: hamdallahamjad@yahoo.com
- Андрусевич
Екатерина Вадимовна** Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, аспирант каф. экологии и охраны окружающей среды, e-mail: eandrusevich@mail.ru
- Брановицкая
Татьяна Юрьевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры органической и биологической химии
- Вишнякова
Карина
Александровна** Южный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии, м.н.с., Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант, e-mail: karinavishnyakova@gmail.com
- Вовчук
Ирина Леонидовна** Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, д.б.н., профессор кафедры биохимии биологического факультета, e-mail: irvov@mail.ru
- Гидулянов
Антон Александрович** Южный филиал национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры земледелия, общей и агрономической химии, e-mail: sga@mail.ru
- Гладилина
Елена Викторовна** Национальный заповедник «Херсонес Таврический», н.с., Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ст. лаб., e-mail: el.gladilina@gmail.com
- Гольдин
Павел Евгеньевич** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент, e-mail: pavelgoldin412@gmail.com
- Грабовская
Елена Юрьевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, зав.каф., к.б.н., доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры, e-mail: grabovskaya13@mail.ru
- Гусев
Алексей Николаевич** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры общей и физической химии, e-mail: galex0330@rambler.ru

Давыдов Вадим Вячеславович	ГУ “Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины”, зав. лабораторией возрастной эндокринологии и обмена веществ, Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, доктор мед. наук, профессор кафедры биологической химии, e-mail: vaddavydov@mail.ru
Демченко Татьяна Викторовна	ГУ "Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины", преподаватель кафедры физиологии, e-mail: tatiana_mashko@mail.ru
Евстигнеев Максим Павлович	Севастопольский национальный технический университет, д.физ.мат. наук, профессор кафедры физики, e-mail: max_evstigneev@mail.ru, Белгородский государственный университет, биолого-химический факультет заведующий лабораторией ЯМР спектроскопии
Ещенко Юлия Витальевна	Запорізький національний університет, доктор біологічних наук, доцент кафедри біохімії та імунології, e-mail: vd.bovt@gmail.com
Ёлкина Наталья Маратовна	Крымский факультет Запорожского национального университета, кандидат биологических наук, доцент кафедры физического воспитания, спорта и здоровья человека
Завьялов Андрей Вениаминович	Институт биологии южных морей НАНУ им. А.О. Ковалевского, ведущий инженер отдела ихтиологии, e-mail: andrej-zavyalov@yandex.ru
Карагайчева Юлия Владимировна	Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., ассистент кафедры «Природная и техносферная безопасность», кандидат биологических наук, e-mail: Karagaycheva.Julia@yandex.ru
Кацев Андрей Моисеевич	Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, к.х.н., д.б.н., доцент, заведующий кафедрой общей химии, e-mail: katsev@mail.ru
Кириллова Алла Викторовна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Кирух К.Г.	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент
Козлова Светлана Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ст. преподаватель кафедры спорта и физического воспитания
Козулина Татьяна Николаевна	Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., с.н.с. НИЛ «Биофизических методов исследований»

Коношенко Светлана Владимировна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор каф. биохимии
Коренькова О.О.	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры лесное и садово-парковое хозяйство
Коробейникова Леся Григорьевна	Учебно-Научный центр « Институт биологии» Киевского национального университет имени Тараса Шевченка, кандидат биологических наук, докторант, e-mail: lesia.66@mail.ru
Костюк Александра Сергеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., старший преподаватель кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: alexkostyuk@mail.ru
Лисконог Лилия Васильевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ст. преподаватель кафедры спорта и физического воспитания
Меметова Лейля Аметовна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, магистр кафедры органической и биологической химии, e-mail: memetova-lilya92@mail.ru
Митрофанова Ирина Вячеславовна	Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, доктор биологических наук, зав. лаборатории биохимии, биотехнологии и вирусологии растений, e-mail: in_vitro@ukr.net
Островская Светлана Сергеевна	ГУ «ДМА МОЗ Украины», профессор кафедры медицинской биологии, фармакогнозии и ботаники
Отраднава Милена Искендеровна	Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., ассистент кафедры «Природная и техносферная безопасность», e-mail: risavalasava@yandex.ru
Панова Светлана Алексеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Певзнер Наталья Соломоновна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат технических наук, доцент кафедры общей и физической химии, e-mail: pevzner.nata@g.mail.com
Погодина Светлана Владимировна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент, заведующая кафедрой спорта и физического воспитания, e-mail: Sveta_pogodina@mail.ru
Рогачева Светлана Михайловна	Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., зав. кафедрой «Природная и техносферная безопасность», доктор биологических наук, e-mail: smro13@land.ru

Родинский Александр Георгиевич	ГУ "Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины", д. мед. н., профессор, зав. кафедры физиологии, e-mail: rodinsky@rambler.ru
Саврась Татьяна Юрьевна	Детская клиническая больница г. Берислав Херсонской области. Лаборант
Сипулинов Ринат Батыркатович	Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., аспирант кафедры «Природная и техноферная безопасность»
Скамрова Галина Борисовна	Севастопольский национальный технический университет, аспирантка кафедры физики, e-mail: galina_skamrova@mail.ru
Старикова Александра Игоревна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка 5 курса факультета биологии и химии
Тевфик Арзы Шевкиевна	Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, младший научный сотрудник лаборатории биохимии, биотехнологии и вирусологии растений, e-mail: tevfik.arzy@yandex.ru
Хмель Наталья Владимировна	Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела «Прикладная биофизика», e-mail: dreval@ire.kharkov.ua
Шульгин Виктор Федорович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и физической химии, e-mail: vshul@crimea.edu
Юферев Владимир Сергеевич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ст. преподаватель кафедры спорта и физического воспитания, e-mail: yuvser@live.ru
Янцев Александр Викторович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Ярмолюк Наталья Сергеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., старший преподаватель кафедры медико-биологических основ физической культуры, e-mail: nat_yarm@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Амжад Хамдаллах, Давыдов В.В.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОДУЛЯЦИИ ГЛУТАТИОНТРАНСФЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В ПОСТМИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ БЕДРЕННОЙ МЫШЦЫ КРЫС.....3

Андрусевич Е.В.

ЭКОМОРФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЗОФАУНЫ ДЕРНОВО-ЛИТОГЕННЫХ ПОЧВ НА СЕРО-ЗЕЛЕННЫХ ГЛИНАХ УЧАСТКА РЕКУЛЬТИВАЦИИ НИКОПОЛЬСКОГО МАРГАНЦЕВО-РУДНОГО БАССЕЙНА..... 11

Вовчук И.Л.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПУХОЛЕВОГО АНТИГЕНА СА 15-3 ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ.....21

Гидулянов А.А.

ВЛИЯНИЕ ДЕНАТУРИРУЮЩИХ ГИДРОФОБНЫХ АГЕНТОВ НА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКУЮ ПОДВИЖНОСТЬ ГЕМОГЛОБИНА33

Гидулянов А.А.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ В УРОВНЕ ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.....42

Гидулянов А.А.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ В ТКАНЯХ ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.....48

Gol'din P.E., Kirukh K.G., Vishnyakova K.A., Gladilina E.V.

SETACEAN STRANDINGS ON THE COAST OF THE KALAMITA GULF (BLACK SEA)55

Єщенко Ю.В.

ВЛИВ ХЕЛАТОРІВ НА КЛІТИНИ, ЯКІ МІСТЯТЬ ЦИНК, ЩО УТВОРЮЄ ХЕЛАТИ62

Ёлкина Н.М., Коношенко С.В.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА И ПРОЦЕССОВ НИТРОЗИЛИРОВАНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ ПРИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ.....73

Завьялов А.В.

ПОПУЛЯЦИОННО-ИЕРАРХИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ МЕТАСТРУКТУРЫ ПАРАЗИТАРНОЙ СИСТЕМЫ НЕМАТОДЫ *HYSTEROTHYLACIUM ADUNCUM* (NEMATODA: ASCARIDATA) В МОРСКИХ БИОЦЕНОЗАХ КРЫМА.....80

Коренькова О.О. ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕРРИТОРИАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДРЕВОСТОЕВ <i>JUNIPERUS FOETIDISSIMA</i> WILLD. В УРОЧИЩЕ СИНАБ-ДАГ ..	96
Коробейникова Л.Г. ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ МОЗГА НА ВОЗМОЖНОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ ПСИХИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ В ЕДИНОБОРСТВАХ	103
Костюк А.С. УЧАСТИЕ ОПИОИДНОЙ СИСТЕМЫ В ИЗМЕНЕНИЯХ НОЦИЦЕПЦИИ МЫШЕЙ ПРИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ЭКРАНИРОВАНИИ	113
Островская С.С. ВОЗДЕЙСТВИЕ АЛКОГОЛЯ И КУРЕНИЯ НА ТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КАДМИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	123
Погодина С.В., Козлова С.Н., Лисконог Л.В., Юферев В.С. ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КОРТИЗОЛА В ОРГАНИЗМЕ МУЖЧИН РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА И УРОВНЯ ТРЕНИРОВАННОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТЫ	132
Родинський О.Г., Демченко Т.В. АНАЛІЗ ЗМІН МАСИ ТІЛА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ГАММА-ГІДРОКСИБУТИРАТУ ПІСЛЯ ПЕРЕДАВЛЮВАННЯ СІДНИЧНОГО НЕРВА	142
Сипулинов Р.Б., Карагайчева Ю.В., Козулина Т.Н., Рогачева С.М., Отраднова М.И. ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЦЕНКА ДЕСТРУКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, УТИЛИЗИРУЮЩИХ АКРИЛОВЫЕ ПОЛИМЕРЫ	150
Тевфик А.Ш., Митрофанова И.В. ИЗУЧЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ЗАРОДЫШЕЙ и семян КАННЫ САДОВОЙ (<i>CANNA x HYBRIDA HORT.</i>) В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i>	157
Хмель Н.В. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ КОНТАМИНАЦИИ МИКРОФЛОРОЙ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ	165
Янцев А.В., Кириллова А.В., Панова С.А., Абдулаев А.А., Саврась Т.Ю. ВОЗДЕЙСТВИЕ СИНУСОИДАЛЬНЫХ МОДУЛИРУЮЩИХ ТОКОВ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЮНОШЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ	172
Ярмолюк Н.С., Грабовская Е.Ю. ПЕРЕХОД НА «ЗИМНЕЕ ВРЕМЯ» ВЫЗЫВАЕТ ДЕСИНХРОНОЗ В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У СПОРТСМЕНОВ	180

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Кацев А.М., Скамрова Г.Б., Евстигнеев М.П.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИЙ ДНК-ИНТЕРКАЛЯТОРОВ С КОФЕИНОМ НА ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ БАКТЕРИИ186

Меметова Л.А., Брановицкая Т.Ю.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА КОНДИТЕРСКИХ ПОЛУФАБРИКАТОВ ИЗ ВИНОГРАДНОЙ ВЫЖИМКИ.....196

Певзнер Н.С., Гусев А.Н, Старикова А.И., Шульгин В.Ф.

КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ 3d-МЕТАЛЛОВ С ГИДРАЗОНОМ ПИРИДИНКАРБАЛЬДЕГИДА И 3-АМИНО-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-5-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ202

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ.....211

СОДЕРЖАНИЕ215