Журнал основан в 1918 г.

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

ТАВРИЧЕСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА им. В. И. ВЕРНАДСКОГО

Научный журнал

Серия “Биология, химия”

Том 22 (61). № 2

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского

Симферополь, 2009

ISBN 1606-3715

Журнал зарегистрирован 23 ноября 1999 года
Серия КМ № 534

Редакционная коллегия журнала:

Багров Н. В. – главный редактор
Бержанский В. Н. – заместитель главного редактора
Ена В. Г. – ответственный секретарь

Редакционная коллегия серии «Биология, химия»

Биологические науки
Темурьянц Н.А., доктор биологических наук, профессор – ***(редактор серии)***
Чуян Е.Н., доктор биологических наук, профессор ***(выпускающий редактор)***
Коренюк И. И., доктор биологических наук, профессор
Бугара А.М., доктор биологических наук, профессор
Павленко В.Б., доктор биологических наук, профессор
Юрахно М. В., доктор биологических наук, профессор
Коношенко С. В., доктор биологических наук, профессор

Химические науки
Шульгин В. Ф., доктор химических наук, профессор – ***(редактор серии)***
Гришковец В.И., доктор химических наук, профессор
Земляков А. Е., доктор химических наук, профессор
Федоренко А. М., доктор химических наук, профессор
Чирва В. Я., доктор химических наук, профессор

© Таврический национальный университет, 2009 г.
Подписано в печать 01.07.2009. Формат 60x84 $^{1}/_{8}$ усл. изд. л. 10,6. Тираж 500. Заказ № 17/а.
Отпечатано в информационно-издательском отделе ТНУ.
Проспект Вернадского, 4, г. Симферополь, 95007

„Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського"
Науковий журнал. Серія «Біологія, хімія». Том 22 (61), №2 .
Сімферополь, Таврійський національний університет ім.. В.І.Вернадського, 2009
Журнал заснований у 1918 р.

Адреса редакції: Проспект Вернадского, 4, м. Сімферополь, 95007
Надруковано у інформаційно-видавницькому відділі Таврійського національного університету ім. В.І.Вернадського.
Проспект Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 3-8.

УДК 581.193.582.594

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ОПТИМИЗАЦИЮ ПРОЦЕССА ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН *CEPHALANTHERA DAMOSONIUM* (*MILL.*) *DRUCE* (*ORCHIDACEAE*)

Астапенко Н.А.

Представлены результаты исследований по влиянию факторов оптимизации питательной среды на процессы прорастания семян *Cephalanthera damosonium.* Установлена зависимость скорости прорастания семян от концентрации сахарозы в среде. Показана необходимость детального изучения динамики накопления запасных метаболитов семени для повышения эффективности семенного асимбиотического размножения.

Ключевые слова: *Cephalanthera damosonium,* питательная среда, семенное асимбиотическое размножение.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с проблемой сокращения видового разнообразия актуален вопрос семенного асимбиотического размножения орхидных. В настоящее время накоплен достаточно большой опыт выращивания тропических и субтропических орхидей [1 – 3]. Однако остаются нерешенными проблемы культивирования ряда орхидных умеренной зоны. Успешное культивирование семян орхидных в условиях *in vitro* во многом зависит от сбалансированного состава питательной среды, содержащей макро и микроэлементы, углеводы, витамины и регуляторы роста в нужном количестве. В связи с этим целью работы являлось изучение влияния факторов питательной среды на оптимизацию процесса прорастания семян *Cephalanthera damosonium* (*Mill.*) *Druce*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследований служили семена из зрелых плодов *Cephalanthera damosonium* (*Mill.*) *Druce*. В работе применяли общепринятые методы культуры изолированных тканей и органов растений [4]. В качестве стерилизующего агента использовали 3 % перекись водорода, выдерживая в ней семена в течение 3 суток перед посадкой. После обработки семена промывали стерильной дистиллированной водой [5].

В исследованиях использовали три варианта среды Кнудсона [2] и модификацию среды FN [6] (табл. 1). Модифицированные среды Кнудсона содержали гумат натрия (50 мл/л), активированный уголь (1 г/л) и различались по концентрации сахарозы (Кнудсон С – 20 г/л, Кнудсон С-1 – 10 г/л, Кнудсон С-2 – 50 г/л). Культивирование семян проводили в культуральных сосудах в термостате с температурой +20 – +25°С, а затем в фитолюминистате ФСЛ-В с освещением 1-3 тыс. люкс при температуре +20 – +25 °С с фотопериодом 16 часов. Чтобы оценить влияние исследуемых факторов оптимизации питательной среды на скорость прорастания семян, каждые сутки, начиная с первых суток культивирования, семена отбирали для приготовления временных препаратов. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по общепринятым методам [7].

Таблица 1.

Компоненты используемых вариантов питательных сред

Компонент среды	Питательная среда			
	Кнудсон С	Кнудсон С-1	Кнудсон С-2	FN – мод.
$Ca(NO_3)_2 . 4H_2O$	1000 мг/л			44 мг/л
$(NH_4)_2SO_4$	500 мг/л			–
KH_2PO_4	250 мг/л			20 мг/л
$MgSO_4.7H_2O$	250 мг/л			20 мг/л
$FeSO_4. 7H_2O$	27,8 мг/л			14 мг/л
$MnSO_4. 4H_2O$	7,5 мг/л			–
Гумат натрия	–	50 мг/л		–
Активированный уголь	–	1000 мг/л		
Сахароза	20000 мг/л	10000 мг/л	50000 мг/л	10000 мг/л
Агар	8000 мг/л			
NH_4NO_3	–			40 мг/л
KCl	–			20 мг/л
Трилон «Б»	–			19 мг/л
Гидролизат казеина	–			700 мг/л
Сухой дрожжевой экстракт	–			800 мг/л

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным источникам, успех культивирования семян орхидных зависит не только от состава питательных сред и условий культивирования, но и от стадии развития зародыша [1, 8, 9]. Формирование в семенах большинства орхидных недифференцированных на органы зародышей и подавление развития эндосперма обусловливает накопление основного количества запасных питательных веществ непосредственно в тканях самого зародыша. Проведенные гистохимические исследования позволили установить определенные закономерности накопления крахмала и липидов на отдельных этапах эмбриогенеза и постсеменного развития некоторых видов орхидей [10].

Так, на ранних этапах формирования семени основным метаболитом является крахмал, тогда как в полностью созревших семенах преобладают вещества липидной природы [10, 11]. Экспериментальные данные показывают, что запасной крахмал служит резервом субстратов и энергии для биосинтеза липидов. Ряд авторов [1, 5, 8, 9] в своих работах отмечают, что в период зрелости плода-коробочки семена уже находятся в состоянии глубокого покоя и поэтому не прорастают в течение длительного времени. При этом семена, взятые из зеленых коробочек, прорастают намного быстрее. Следовательно, липиды являются основным веществом периода покоя семян. В процессе прорастания наблюдается обратная динамика: уменьшение количества липидов и увеличение крахмальных зерен.

Если допустить, что для преодоления состояния покоя семян необходимо восстановить соотношение крахмал – липиды в пользу крахмала, то нужно подобрать оптимальную концентрацию внешнего источника углеводов. Углеводы в составе питательной среды выполняют две функции – являются источником энергии и строительным материалом для процессов жизнедеятельности зародышей в культуре, и, кроме того, обеспечивают необходимые осмотические свойства среды. Проведенные многими авторами исследования по изучению влияния сахаров на зародыши показали, что лучшим источником углерода для зародышей является сахароза [12]. В литературе также имеются данные о различном влиянии сахаров на зародыши в зависимости от их концентрации, в связи с чем основной акцент модификаций используемых нами питательных сред заключался в различном содержании сахарозы: Кнудсон С-1 и модифицированная среда FN – 10 г/л; Кнудсон С – 20 г/л; Кнудсон С-2 – 50 г/л.

В процессе культивирования семян на питательной среде можно выделить следующие этапы прорастания: набухание семян, начало протокормообразования, массовое протокормообразование и появление ювенильных растений. Полученные в результате эксперимента данные показывают, что концентрация сахарозы в питательной среде оказывает существенное влияние на скорость прорастания семян, то есть на время наступления определенного этапа прорастания и его протяженность (рис. 1; табл. 2).

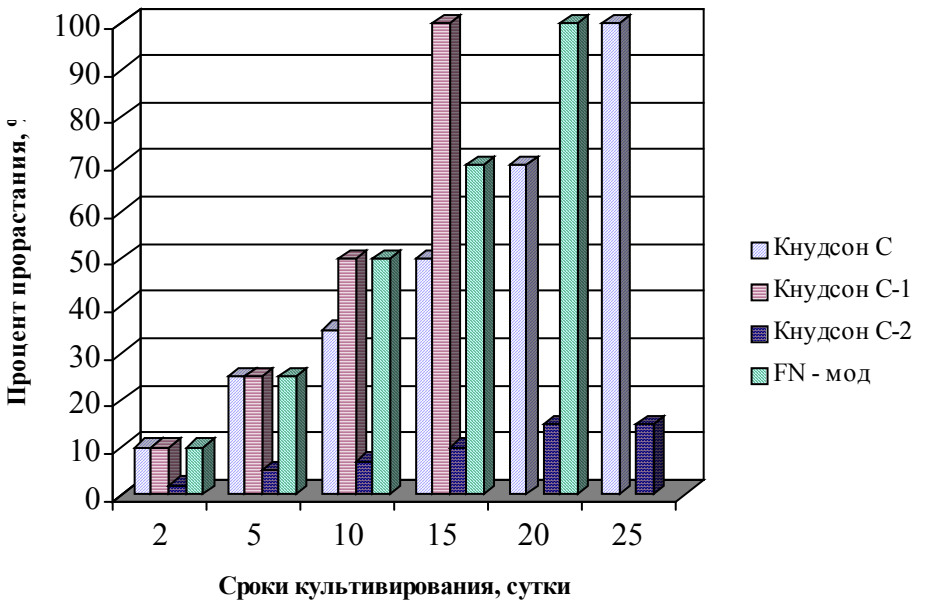


Рис. 1. Влияние сахарозы различной концентрации на скорость прорастания семян *C. damosonium.*

Таблица 2.

Влияние концентрации сахарозы на скорость прорастания семян *C. damosonium* (количество набухших семян от общего количества высеянных на среду, в %)

Вариант питательной среды	Сутки культивирования					
	2	5	10	15	20	25
Кнудсон С	10 %	25 %	35 %	50 %	70 %	100 %
Кнудсон С-1	10 %	25 %	50 %	100 %		
Кнудсон С-2	2 %	5 %	7 %	10 %	15 %	15 %
FN –мод.	10 %	25 %	50 %	70 %	100 %	

При культивировании семян *C. damosonium* на четырех представленных вариантах сред были отмечены существенные различия скорости прорастания. Начиная с 5 суток культивирования, интенсивное набухание наблюдалось у семян на всех вариантах питательных сред, кроме среды Кнудсон С-2. На этом варианте среды слабое набухание (7 – 10 %) начиналось на 12 – 15 сутки культивирования, после чего процесс прорастания приостановился. На стандартной среде Кнудсон С интенсивное набухание длилось до 20 – 25 суток культивирования (70 – 100 %), затем формировались первичные протокормы. Наиболее быстрое прорастание

наблюдалось у семян, высаженных на среду Кнудсон С-1. Так, уже на 7 – 10 сутки культивирования набухало 50 % семян, а на 15 сутки происходило формирование протокормов. На среде FN модифицированной получены аналогичные результаты до 10 – 15 суток культивирования, затем скорость прорастания замедлялась по сравнению со средой Кнудсон С-1, причиной чему, возможно, послужил более сложный состав среды FN.

Эти результаты можно объяснить, сопоставив полученные данные с данными о динамике метаболитов в процессе формирования и прорастания семян орхидных. В таком случае, средняя скорость прорастания семян на стандартной среде Кнудсона С объясняется достаточным количеством углеводов для восстановления необходимого соотношения метаболитов. Максимальная интенсивность прорастания в варианте модификации Кнудсон С-1, возможно объясняется тем, что такое небольшое количество углеводов не только превышает необходимый порог, но и стимулирует превращение запасных липидов в крахмал, тем самым, обеспечивая быстрый выход из периода покоя. Замедленное прорастание на среде Кнудсон С-2 вероятно связано с превышающим норму количеством углеводов, для утилизации которых происходит их превращение в вещества липидной природы, что препятствует выведению семян из состояния покоя.

Таким образом, полученные результаты создают предпосылку для детального изучения динамики накопления запасных метаболитов в процессе формирования и прорастания семян орхидных и определения оптимальной стадии их развития для введения в культуру *in vitro*. Это позволит повысить эффективность метода семенного асимбиотического размножения.

ВЫВОДЫ

1. Показано влияние концентрации сахарозы в питательной среде на скорость прорастания семян *C. damosonium*.
2. Выдвинута гипотеза, объясняющая зависимость скорости прорастания семян *C. damosonium* от динамики запасных метаболитов семени.
3. Показана необходимость детального изучения динамики накопления запасных метаболитов в процессе формирования и прорастания семян орхидных и определения оптимальной стадии их развития для введения в культуру *in vitro*.

Список литературы

1. Поддубная-Арнольди В. А. Орхидеи и их культура / В. А. Поддубная-Арнольди, В. А. Селезнева. – М.: АН СССР, 1957. – 174 с.
2. Черевченко Т. М. Орхидеи в культуре / Т. М. Черевченко, Г. П. Кушнир. – К.: Наук. думка, 1986. – 200 с.
3. Шосер Г. Орхидеи. Выращивание в домашних условиях. Разведение и уход / Шосер Г. – М.: Интербук-бизнес, 1997. – 132 с.
4. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. – К.: Наук. думка, 1980. – 488 с.
5. Куликов П. В. Симбиотическое прорастание некоторых нетропических орхидных in vitro / Куликов П. В., Филиппов Е. Г. // Охорона і культивування орхідей: міжнар. наук. конф., 15 – 18 сентября 1999 г. : тези доп. – К., 1999. – С. 57 – 58.

6. Батыгина Т. Б. Размножение растений / Батыгина Т. Б., Васильева В. Е. – СПб.: С.-Петерб. ун-т, 2002. – 232 с.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия / Лакин Г. Ф. – М.: Высш. школа, 1980. – 293 с.
8. Андронова Е.В. Эмбриогенез и постсеменное развитие орхидных (на примере Dactylorhiza baltica, D. Incarnate, Thunia marschalliana, Bletilla striata): автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.05 «Ботаника» / Е.В. Андронова. – Л., 1988. – 24 с.
9. Андронова Е. В. Эмбриогенез орхидных / Андронова Е. В. // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции / [ред. Батыгина Т. Б.]. – СПб.: Мир и семья, 1997. – Т.3. – С. 544 – 556.
10. Шевцова Г. Г. Развитие репродуктивных структур Cymbidium hybridum Hort. и Dactylorhiza maculate L. (Soo) в культуре in vitro: автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.05 «Ботаника» / Г. Г. Шевцова. – Кишинев, 1989. – 25 с.
11. Теплицкая Л. М. Гистохимические исследования запасных веществ в тканях зародыша орхидных в процессе созревания семени / Теплицкая Л. М., Бугара А. М. // Охрана и культивирование орхидей: междунар. науч. конф., 6 – 8 октября 2003 г. : тезисы докл. – Х., 2003. – С. 59 – 60.
12. Здруйковская-Рихтер А. И. Эмбриокультура изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений / Здруйковская-Рихтер А. И. – Ялта: Никитский Бот. Сад, 2003 – 368 с.

Астапенко Н.А. **Вплив чинників оптимізації живильного середовища на процеси проростання насіння *Cephalanthera damosonium (Mill.) Druce (Orchidaceae)*** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т. 22 (61). – № 2. – С. 3-8.

Представлені результати досліджень по впливу чинників оптимізації живильного середовища на процеси проростання насіння *Cephalanthera damosonium*. Встановлена залежність швидкості проростання насіння від концентрації сахарози в середовищі. Показана необхідність детального вивчення динаміки накопичення запасних метаболітів насіння для підвищення ефективності насінневого асимбіотичного розмноження.

Ключові слова: *Cephalanthera damosonium,* живильне середовище, насінне асимбіотичне розмноження.

Astapenko N.A. **Influence of optimization’s factors of nutrient medium on the processes of *Cephalanthera damosonium (Mill.) Druce (Orchidaceae)* seed’s germination** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 3-8.

The results of researches on influence of optimization’s factors of nutrient medium on the processes of *Cephalanthera damosonium* seed’s germination are represented. Dependence of speed of seed’s germination on the concentration of sucrose in a medium is set. It is shown the necessity of the detailed study of dynamics of seed’s metabolites accumulation for the increase of efficiency of seed asymbiotic reproduction.

Keywords: *Cephalanthera damosonium*, nutrient medium, the seed asymbiotic reproduction.

Поступила в редакцию 06.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 9-15.

УДК 635.714:633.81:633.88

ORIGANUM VULGARE L. И *ORIGANUM TYTTANTHUM* GONTSCH. КАК ЛЕКАРСТВЕННЫЕ, ЭФИРОМАСЛИЧНЫЕ, ПРЯНО-АРОМАТИЧЕСКИЕ И ДЕКОРАТИВНЫЕ РАСТЕНИЯ

Бойко Е.Ф.

В обзорной статье рассмотрены некоторые представители семейства *Lamiaceae* Lindl.: *Origanum vulgare* L. и *O. tyttanthum* Gontsch. Дана характеристика их использования как лекарственных, эфиромасличных, пряно-ароматических и декоративных растений.

Ключевые слова: *Origanum vulgare* L., *O. tyttanthum* Gontsch., пряно-ароматические растения, эфирное масло.

Род *Origanum* L. относится к подсемейству *Lamioideae* L. семейства *Lamiaceae* Lindl. и насчитывает по разным данным от 10 до 20 видов, которые распространены в Европе, Средиземноморье и умеренных областях Азии, 13 из них по данным Flora Europaea встречаются в Европе [1 – 3]. На территории бывшего СССР встречается 3 вида: *Origanum vulgare* L., *O. tyttanthum* Gontsch. *и O. kopetdaghensis* Boriss [1, 4]. По С. Мосякину и Н. Федорончуку (1999) на территории Украины произрастает только один вид душицы – *O. vulgare* L. – душица обыкновенная [5]. Однако во «Флоре УРСР» крымские растения с более компактным соцветием, более округлыми листьями и некоторыми другими отличиями рассматриваются как самостоятельный эндемичный вид *O. dilatatum* Klok. [6]. Кроме того, Е.В. Вульф выделяет для Крыма форму *O. vulgare f. albiflorum* Lej. с белым венчиком и неокрашенными чашечкой и прицветниками [7].

Иногда душицу обыкновенную (*Origanum vulgare* L.) называют «диким майораном», что только вносит путаницу. Некоторые авторы также относят майоран к роду *Origanum* L. [3, 8, 9], но во Флоре СССР (1954) и по данным С. Мосякина, Н. Федорончука (1999) и С. Черепанова (1995) он выделен в отдельный самостоятельный род *Majorana* Moench. [1, 4, 5].

Origanum – латинизированное название растения *oreganon* (от *oros* – гора, *ganos* – блеск) - переводится как «украшение гор» [10, 11].

Родина *O. vulgare* L. – Средиземноморье [11 – 14]. Душица обыкновенная произрастает почти по всей Европе и в европейской части СНГ, а также в южных районах Сибири, заходя на восток до Забайкалья, на Кавказе, в Казахстане, Грузии, в Средней и Малой Азии, Северной Америке. В Украине распространена повсеместно. Душица встречается в кустарниках, на холмах, на травянистых

солнечных склонах, по лесным и степным лугам; на Кавказе заходит и в субальпийские районы [1, 3].

Душица – универсальная культура, она находит применение в самых различных областях как лекарственное, эфиромасличное, пряно-ароматическое и декоративное растение.

Различные народы с давних времён использовали душицу. У египтян масло душицы было любимым средством для ванн. В Персии астрологи настаивали на душице бальзамы, которые, по их мнению, могли препятствовать влиянию враждебных планет. Также душица входила в состав любовных снадобий. В эпоху Ренессанса душицу повсеместно выращивали дома в горшках и применяли при лёгочных заболеваниях. Во Франции её прописывали при нервных расстройствах и эпилепсии. Растение широко использовали при женских болезнях как кровоостанавливающее средство, особенно после родов, а также для усиления лактации у кормящих матерей, для облегчения состояния женщин в климактерическом периоде, поэтому на Украине эту траву зовут «материнка» [10, 14, 15].

С лечебной целью применяются листья, стебли, цветки и эфирное масло душицы [10]. Как лекарственное растение *O. vulgare* L. входит в фармакопеи многих стран. Лекарственным сырьём служит трава душицы – верхняя часть побегов с цветками и листьями [16, 17]. В ней содержится 0,07-0,2% от сырой массы эфирного масла (0,15-0,4 в пересчёте на сухую траву), дубильные (до 20%) и горькие вещества, флавоноиды, аскорбиновая кислота, пигменты, фитонциды, микроэлементы (молибден, кобальт, цинк и др.) [1, 10 – 14]. В семенах находится до 29,15% жирного масла, представляющего интерес для фармацевтической промышленности [1].

Широкое использование душицы в медицине обусловлено тем, что основными действующими веществами являются эфирное масло, дубильные вещества и горечи [10].

Экспериментально доказано, что препараты душицы обладают успокаивающим действием на центральную нервную систему, а также усиливают секрецию пищеварительных и бронхиальных желёз, перистальтику кишечника [12, 14]. Ее препараты нормализуют процессы расщепления жиров, обладают выраженным противоспазматическим, секретолитическим, обволакивающим, желчегонным, обезболивающим, противоаллергическим, кровоостанавливающим, заживляющим и отхаркивающим действием [10, 18]. Водные настои травы душицы используют внутрь как седативное средство при неврозах, бессоннице, а также при гастритах со сниженной секреторной деятельностью, холециститах, анорексии, хроническом энтероколите, как жаропонижающее средство; при воспалении дыхательных путей, бронхиальной астме [10, 14]. Душица снимает спазмы желудка, предупреждает тошноту и рвоту, обладает противосудорожным действием [11, 12]. В комбинации с другими растениями траву рекомендуют как антисклеротическое, гипотензивное, болеутоляющее, противовоспалительное и дезодорирующее средство. Душица входит в состав мочегонного, потогонного и ветрогонного чая [14]. Эффективны препараты душицы и в виде бальзамов и лосьонов для массажа. Настой травы душицы используется для спринцевания влагалища при генитальном зуде, белях и хроническом кольпите. Экстракт травы душицы – составная часть комплексного препарата

«Уролесан», используемого при заболеваниях моче- и желчевыводящей систем [10]. Эту душистую траву используют и для ароматизации ванн [1, 12]. В индийской медицине *O. vulgare* L. используется как ароматическое, стимулирующее и укрепляющее средство [19].

Однако так как душица стимулирует сокращения мускулатуры матки, что может привести к прерыванию беременности, препараты душицы не рекомендуется применять беременным женщинам на всём протяжении беременности, а также противопоказано применять препараты душицы при тяжёлых заболеваниях сердечно-сосудистой системы и повышенной секреторной деятельности желудка [10, 14].

В ряде стран (Франция, Германия, Дания, Норвегия, Польша, Австрия, Индия, США) душица введена в культуру как лекарственное растение, а в СНГ она выращивается и как эфиромасличное растение [13, 16].

Издревле душица была популярна в странах Южной Европы (Италия, Испания), а также на американском континенте – в Мексике – как пряность [10, 16]. Ароматический компонент душицы достаточно сильный, он очень близок майорану и тимьяну, дополняя букет. Вкус душицы нежнее, чем у майорана, сильный, слегка вяжущий, терпкий, горько-пряный [14]. Свежая и сушеная трава используется в качестве пряности, известной во всём мире под названием «орегано» или «пицца-пряность» [12, 16, 20, 21]. При приготовлении знаменитой итальянской пиццы приправа из душицы почти обязательна [16]. Траву душицы добавляют в спагетти, салаты, колбасы, блюда из овощей и яиц, в сыры, супы и соусы [10, 13, 16]. Нарезанные её листья придают блюдам аппетитный вкус и приятный запах, особенно блюдам из картофеля, бобов и гороха [12]. Употребляется она также при жарении мяса в духовке и гриле, а также к тушёному и варёному мясу, при приготовлении кваса, консервов, при засолке огурцов, грибов и томатов [10 – 14, 16]. Рекомендуется комбинация душицы с базиликом и чёрным перцем. Хорошо сочетается она с грибами – особенно шампиньонами. С душицей выпекаются булочки, пряники, лепёшки. Траву используют также при изготовлении горьких настоек [11, 13, 14]. При хранении пряно-ароматического сырья душицы в хорошо закрытых стеклянных банках оно не теряет своих ценных свойств в течение двух-трёх лет [14, 22].

Немалое удовольствие доставляет любителям оригинальных напитков заваренный душицей чай. В народе его называют напитком здоровья. Для заварки чая берут соцветия, молодые побеги. Такой чай очень целебен при грудных заболеваниях как потогонное средство [10, 12, 13].

Надземная часть растения душицы обладает красящими свойствами: из цветков получают оранжево-красную краску для окрашивания шерсти, а из травы при добавлении железного купороса можно получить чёрную краску для хлопка [11, 12, 14, 16]. Известно, например, что вместе с другими растениями в начале XVIII в. душицу доставляли большими партиями из Киевской губернии на шерстяные фабрики Петербурга для крашения [16].

Душица – хороший медонос, даёт много нектара; пчёлы охотно посещают её цветки. С 1 гектара сплошного посева получают до 169 кг мёда. Пчеловоды натирают травой душицы улья для привлечения пчёл при роении [1, 12, 16].

O. vulgare L. – витаминоносное растение, кроме масла в листьях содержится каротин и витамины С, B_1, B_2 [1, 19, 23].

Душицей окуривали молочные горшки и обвязывали плодовые деревья, чтобы на них не вползали муравьи. Клали её и в платяные шкафы от моли [16].

Зелёные побеги и цветки душицы обладают горьковато-пряным, слегка вяжущим и терпким вкусом, сильным приятным ароматом. Из них получают эфирное масло, известное под названием «хмелевое», которое преимущественно применяется в парфюмерно-косметической промышленности в качестве природного ароматизатора гигиенических средств, одеколонов и туалетных вод [9, 10, 12, 13, 23].

Эфирное масло душицы – это прозрачная жидкость желтого цвета, с приятным, сильным, древесным, пряным запахом. Основными компонентами эфирного масла душицы являются фенолы (тимол 13,28 – 59,02%, карвакрол 2,78 – 45,06%), би- и трициклические сесквитерпены (до 12,5%), терпеновые спирты (до 15,4%). Тимол является основным носителем запаха [10 – 12, 14]. По данным «Флоры СССР» (1954), И. Капелева и В. Машанова основным компонентом эфирного масла душицы является тимол (до 50%) [1, 19]. Однако С.А. Войткевич в своих работах указывает, что содержание фенолов достигает 70%, причём в большинстве случаев количество тимола не превышает 5-6% [24]. Такое колебание процентного соотношения компонентов эфирного масла говорит о наличии в природном фонде различных хемотипов *O. vulgare* L.

Эфирное масло *O. vulgare* L. включено в Госфармакопею СССР как антисептическое и болеутоляющее средство [19].

Душица – хорошее декоративное растение. Она находит применение в саду ароматов или на огороде во французском стиле, где на одной грядке уживаются цветы, овощи и пряности. Также её используют на аптекарской грядке, где она эффектно смотрится с другими растениями, цветущими летом. Карликовые разновидности душицы можно использовать на небольших террасах на альпийской горке. Изящный вид имеет душица, посаженная чистыми куртинами на кромке различных по составу лесных насаждений. Н.К. Коваленко с соавторами [25] выделили *O. vulgare* L. как вид летне-осеннего срока цветения для формирования декоративных композиций, обеспечивающих непрерывное цветение. В любом случае душица придаёт саду естественность дикой природы. Являясь полиморфным видом, она образует ряд форм по окраске цветков, величине листьев, форме соцветий. Например, сорт «Thumble's Variety» – с жёлтыми листьями, «Snow storm» цветёт серебристо-белыми цветками, «Compactum» не превышает 20-30 см в высоту. Менее привычна золотистая форма (f. aureum), листья которой более светлого салатного цвета, в высоту эта форма также не превышает 20 – 30 см. У пестролистной формы (f. variegatum) вегетативные побеги стелются по земле, приподнимаясь не более чем на 5 – 7 см. Мелкие округлые листья обведены тонкой кремово-белой каймой [8, 26].

Одним из основных растений, формирующих ландшафт в горах Таджикистана и Узбекистана является *Origanum tyttanthum* Gontsch. (душица мелкоцветковая). Эндем Средней Азии и юга Казахстана. Произрастает преимущественно в средней

полосе гор среди древесно-кустарниковой растительности и в субальпийском поясе на мелкоземистых и щебнистых почвах [1, 27].

Запах растений травянисто-пряный с тонами тимола и цветочно-цитрусовой нотой [19].

Л.А. Ельчибекова и Г.К. Никонов [27] рекомендуют душицу мелкоцветковую применять наравне с душицей обыкновенной в медицинской практике, так как она даже превосходит по содержанию фенолов и выходу масла официальную душицу обыкновенную. Другие авторы также указывают, что применение *O. tyttanthum* Gontsch. в научной и народной медицине сходно с применением *O. vulgare* L. [28]. Но в отличие от душицы обыкновенной, душица мелкоцветковая в фармакопею не внесена.

Выход эфирного масла у *O. tyttanthum* Gontsch. наибольший в период цветения. В эфирном масле содержится до 75% терпинеола, а по С.Н. Кудряшеву [27] масло содержит от 35 до 66% фенолов: тимола и карвакрола, что также указывает на наличие в природном фонде различных хеморас *O. tyttanthum* Gontsch.. По данным ряда авторов свежая трава душицы содержит от 0,08 до 0,57% масла [1, 9]. Согласно данным Л.А. Ельчибековой и Г.К. Никонова [27] в Казахстане обнаружена высокомасличная форма, выход эфирного масла составил 1,15%.

Значительный интерес представляет трава и эфирное масло как пряность в быту. В свежем и в высушенном виде растение употребляется в мясных и рыбных блюдах, для изготовления соусов, супов, салатов, мясных и рыбных блюд, при консервировании овощей, используется для приготовления горьких настоек, вермутов и безалкогольных напитков.

Эфирное масло душицы мелкоцветковой также применяется в парфюмерной промышленности. Оно пригодно для отдушки мыла [1, 19, 27, 28].

Как и *O. vulgare* L., *O. tyttanthum* Gontsch. является хорошим медоносным растением [1, 28].

Душица мелкоцветковая характеризуется красивыми цветками и также может использоваться в зелёном строительстве.

Таким образом, вышеперечисленные виды душицы - очень ценные лекарственные и эфиромасличные растения, с наличием хемотипической изменчивости и большой вариабельностью по массовой доле эфирного масла. Для получения сырья в основном используются популяции. В Украине промышленные заготовки производят в Винницкой, Львовской, Тернопольской, Черновицкой, Закарпатской, Киевской, Сумской, Черкасской, Полтавской областях, АР Крым [14]. Запасы сырья сокращаются. По данным на 2008 год в «Государственном реестре сортов растений, рекомендованных для распространения в Украине» сортов душицы нет. В связи с этим целесообразно культивировать растение.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о полиморфности душицы по ряду признаков, что позволяет говорить о перспективности селекционной работы с этой культурой. Учитывая такие большие возможности для использования душицы во многих областях жизнедеятельности человека, а также вариации по масличности, наличие в природе различных хемотипов, в Институте эфиромасличных и лекарственных растений УААН начаты работы по изучению этой культуры. На протяжении 2-х лет проводились исследования коллекции

O.vulgare L. и *O. tyttanthum* Gontsch., полученнной с опытной станции лекарственных растений (с. Лекарственное, Симферопольского района АР Крым). Выделены образцы с широкой вариабельностью по массовой доле эфирного масла, его компонентному составу, габитусу и мощности куста, окраске цветков, прицветников, листьев и стеблей, устойчивости к вредителям и болезням, продуктивности, срокам наступления фазы технической спелости, что в будущем позволит выделить материал для создания новых высокопродуктивных (лекарственных, эфиромасличных, пряно-ароматических, декоративных, универсальных) сортов с различными направлениями использования (в пищевой, парфюмерно-косметической и фармацевтической промышленности).

ВЫВОД

Рассмотрены некоторые представители семейства *Lamiaceae* Lindl.: *Origanum vulgare* L. и *O. tyttanthum* Gontsch. Дана характеристика их использования как лекарственных, эфиромасличных, пряно-ароматических и декоративных растений.

Список литературы

1. Флора СССР / Под ред. акад. В.Л. Комарова. Т. XXI. - Москва-Ленинград., Изд-во АН СССР, 1954. – 704 с.
2. Жизнь растений / Под ред. акад АН СССР А.Л. Тахтаджяна. Т. 5, ч. II. – М.: Просвещение, 1981. – 512 с.
3. Flora Europaea. – Vol.3. - Cambridge, University Press, 1972. – 370 p.
4. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание. - СПб.: Мир и семья, 1995. – 992 с.
5. Мосякін С.Л., Федорончук М.М. Судинні рослини України: Номенклатурний список. - Київ, 1999. – 345 с.
6. Определитель высших растений Крыма / Коллектив авторов. под общей редакцией Н.И. Рубцова. - Л.: «Наука», 1972. – 550 с.
7. Вульф Е.В. Флора Крыма. Т III, вып 2. - М.: «Колос», 1966. – С 201-204.
8. В. Чуб. Многолетники для ландшафтного сада. – М.: Эксмо, 2008. – 576 с.
9. Горяев М.Н. Эфирные масла флоры СССР. - Алма-Ата. АН КазахССР, 1952. – с. 166-168.
10. Хлыпенко Л.А. Ароматические растения – великие врачеватели / Либусь О.К., Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Бакова Н.Н. – Донецк: ЗАО «Кедр», 2001. – 33 с.
11. Кощеев А.К., Кощеев А.А. Дикорастущие съедобные растения. – 2-е изд. – М.: Колос, 1994. – 351 с.
12. Браун Э.Э. Травы – приправы. – Алма-Ата: Кайнар, 1987. – 224 с.
13. Пряноароматические растения в быту / Кудинов М.А., Пашина Г.В., Иванова Е.В., Кухарева Л.В. - Мн., «Ураджай», 1976. – 160 с.
14. Дудченко Л.Г. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения: [Справочник] / Дудченко Л.Г., Козьяков А.С., Кривенко В.В. – К.: Наук. Думка, 1989. – 304 с.
15. Ванда Селлар. Энциклопедия эфирных масел / Пер. с англ. К.Ткаченко. – М.:ФАИР-ПРЕСС, 2004. – 400 с.
16. Курганская С.А. Полезные травы и редкие цветы на садовом участке. – М.: Наука, 1995. – 128 с.
17. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё. Вып. 2. - М., «Медицина», 1990. – С. 328 – 330.
18. Мазулин Г.В. Вивчення перспективних тимолвміщуючих рослин родів материнка, майоран, тим'ян флори південного сходу України: Автореф. дис. … канд. фарм. наук. - Харків, 2004. – 22 с.
19. Капелев И., Машанов В. Пряноароматические растения. - Изд-во «Таврия», 1973. – С. 18-21.
20. Willi Evans. An Easy Herb Planter For moms and other great cooks // Organic Gardening, May/Jun 2003, Vol. 50 Issue 3. – P 32.
21. Oregano: Pizza Herb or Medicinal Oil // Environmental Nutrition, Sep 99, Vol. 22 Issue 9. - P 8.
22. Лекарственные растения Украины / Ивашин Д.С., Катина З.Ф., Рыбачук И.З., Бутенко Л.Т., Иванов В.С., Никольская Л.С. - К., «Урожай», 1978. – 320 с.

23. Биоэкологические особенности выращивания пряноароматических лекарственных растений. / Аутко А.А., Рупасова Ж.А., Аутко А.А. и др. – Мн.: Тонпик, 2003. – 160 с.
24. Войткевич С.А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. - М.: «Пищевая промышленность», 1999. – С. 79 - 80.
25. Коваленко Н.К, Мамонтова Н.П, Гиндина С.Р. Обогащение и сохранение генофонда декоративных травянистых растений в регионе Степного Приднепровья // Флора и растительность Украины: Сб. науч. тр./ Редкол.: К. М. Сытник отв. ред. и др. – Киев: Наук. думка, 1986. - 156 с.
26. Ханнекене Ван Дейк. Клумбы и бордюры. Иллюстрированная энциклопедия / Пер. с англ. Б.Н. Головкина. - М.: «Лабиринт Пресс», 2002. – С. 227 – 228.
27. Ельчибекова Л.А., Никонов Г.К. Эфирное масло Origanum tyttanthum // Химия природных соединений, 1986. – С. 247-248.
28. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hippuridaceae – Lobeliaceae. – СПб: Наука, 1991. – 200с.

Бойко О.Ф. **Origanum vulgare L. і Origanum tyttanthum Gontsch. як лікарські, ефіроолійні, пряно-ароматичні та декоративні рослини**// Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т. 22 (61). – № 2. – С. 9-15.

У оглядовій статті розглянуті деякі представники родини *Lamiaceae* Lindl.: *Origanum vulgare* L. і *O. tyttanthum* Gontsch. Надана характеристика їх використання як лікарських, ефіроолійних, пряно-ароматичних та декоративних рослин.

Ключові слова: : *Origanum vulgare* L.*, O. tyttanthum* Gontsch., пряноароматичні рослини, ефірна олія.

Boyko E. F. **Origanum vulgare L. and Origanum tyttanthum Gontsch. as a medicinal, essential oil, spicy-aromatics and ornamental plants**// Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 9-15.

Some representatives of family *Lamiaceae* Lindl.: *Origanum vulgare* L. and *O. tyttanthum* Gontsch. are considered here in this summarizing article. The description of their usage as a medicinal, essential oil, spicy-aromatics and ornamental plants is given.

Key words: *Origanum vulgare* L.*, O. tyttanthum* Gontsch., spicy-aromatics plants, essential oil.

Поступила в редакцию 11.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 16-23.

УДК 612.014.46:612.821:615.214:547.78

ПСИХОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕНЗИМИДАЗОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ СТРЕССА У КРЫС

Гамма Т.В., Епишкин И.В., Коренюк И.И., Аблаева У.Д, Репетий М.И., Хусаинов Д.Р., Катюшина О.В.

В условиях тестов открытое поле, черно-белая камера и крестообразный приподнятый лабиринт при внутрибрюшинной инъекции крысам бензимидазола в дозах 5, 25 и 50 мг/кг показано, что он обладает дозозависимым седативным и анксиогенным действием. По результатам теста Порсолта и подвешивание за хвост бензимидазол только в дозе 5 мг/кг оказывает антидепрессантное действие. Дальнейшее увеличение дозы вещества приводит к проявлениию депрессивности животных.

Ключевые слова: бензимидазол, открытое поле, черно-белая камера, тест Порсолта, подвешивание за хвост, крестообразно-приподнятый лабиринт, поведение крыс.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что поведение животных является чувствительным к действию стресса [1]. При его анализе уделяют внимание состоянию тревожности животных и признакам депрессивности. Именно тревожность является наиболее часто встречающимся спутником эмоционального стресса, первой реакцией ЦНС на стрессор. Традиционно для моделирования подобных состояний используют поведенческие тесты, которые основаны на анализе спонтанного поведения при помещении животных в незнакомую для них среду [2 – 4]. Ожидание потенциальной опасности и новизна/неопределенность окружающей среды в этих тестах и порождают тревожность и депрессию. Показано, что экзогенные вещества, сдвигающие баланс между процессами возбуждения и торможения в ЦНС, способны вызывать выраженные поведенческие реакции в отношении тревожности [5 – 8]. Поскольку ранее нами было установлено, что бензимидазол и некоторые его производные обладают прямым нейротропным эффектом [9], то целью настоящей работы было определить наличие и направленность психотропного действия этого препарата, а также выяснить существует ли зависимость эффектов от дозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование психотропного действия бензимидазола проведено на белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г, которых вне эксперимента содержали в помещении вивария. Для эксперимента отобраны две группы крыс (по 10 особей) с низкой двигательной активностью. Каждой крысе из контрольной группы вводили по 0,2 мл физиологического раствора, а опытным – по 0,2 мл бензимидазола в дозах 5, 25 и 50 мг/кг.

Так как различные тесты могут быть по-разному чувствительны к тем или иным вводимым дозам вещества [10], а моделируемые тревожность и депрессия – носить гетерогенный характер [11, 12], в работе использованы тесты открытое поле, черно-белая камера, Порсолта, подвешивание за хвост и крестообразный приподнятый лабиринт (КПЛ) [13 – 15]. Методические особенности проведения экспериментов в вышеперечисленных тестах, кроме КПЛ, подробно описаны нами ранее [16]. В отношении КПЛ отметим, что он был изготовлен из непрозрачного материала. Ширина рукавов – 14 см при длине 50 см, высота стенок в закрытых рукавах составляла 30 см. В месте пересечения рукавов располагалась центральная открытая площадка 14 х 14 см, на которую первоначально и помещалась крыса. КПЛ располагался на высоте 55 см над уровнем пола на центральной опоре-ножке. Продолжительность теста составляла 5 мин, в течение которых визуально регистрировали поведенческие характеристики крысы:

- число и время выходов в открытые рукава лабиринта;
- число и время выходов в закрытые рукава лабиринта;
- число стоек (вертикальная исследовательская активность);
- количество заглядываний вниз из концов закрытых рукавов (оценка риска);
- число переходов через центральную платформу лабиринта;
- груминг и число дефекаций.

Под выходом в рукав лабиринта подразумевалось любое продвижение по рукаву лабиринта, если при этом мордочка и все передние лапы животного пересекали условную линию между центральной платформой и рукавом. Стойкой считалось приподнимание животного на задних лапах в закрытом рукаве лабиринта над уровнем его стенок. Заглядывание вниз («оценка риска») регистрировалось, если в закрытом рукаве лабиринта наблюдалось пересечение всей мордочкой животного или какой-либо ее частью горизонтальной границы между краем рукава и его условным продолжением [13 – 15]. Лабиринт после тестирования каждого животного изнутри протирался мокрыми и сухими салфетками. Обработка результатов проводилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни в программе Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффекты бензимидазола в тесте открытое поле

В тесте открытое поле под влиянием бензимидазола во всех использованных дозах наблюдалось угнетение поведенческой активности крыс (рис. 1). Показатели горизонтальной двигательной активности (ГДА), характеризующие локомоторную деятельность, по сравнению с контролем (16,2 ± 5,0) достоверно снижались только при введении вещества в дозах 25 и 50мг/кг (до 11 ± 2,5 ($p \leq 0,05$) и до 7,0 ± 1,5 ($p \leq 0,01$) соответственно). Примерно аналогичный депрессивный эффект при действии вещества испытывает и вертикальная двигательная активность (ВДА). Угнетение данного поведенческого феномена наблюдалось уже при дозе 5 мг/кг до 1,6 ± 0,5 ($p \leq 0,05$) и до 0,4 ± 0,2 ($p \leq 0,01$) – при дозе 25 мг/кг, тогда как контрольные значения составляли 4,6 ± 1,7. При дозе вещества 50 мг/кг ВДА полностью нивелировалась.

Следует отметить, что исследовательская активность (ИА) по сравнению с контролем (5,6 ± 0,5) в дозе 5 мг/кг достоверно повышалась до 7,3 ± 0,7 ($p \leq 0,05$), а при дозе 25 мг/кг, наоборот, уменьшалась до 3,4 ± 0,4 ($p \leq 0,05$). При дозе вещества 50 мг/кг показатели ИА также снижались по сравнению с контролем, однако в меньшей степени, чем при дозе 25 мг/кг. Повышение ИА в случае применения малой дозы может указывать на наличие у бензимидазола анксиолитических свойств, а при 25 и 50 мг/кг, наоборот, анксиогенных. Интенсивность груминга (Гр) и количество дефекаций (Деф), являющиеся показателями эмоционального состояния животного, а также состояния систем вегетативной регуляции, которые в контроле составляли 1,3 ± 0,5 и 2,1 ± 0,5 соответственно также снижались. Причем, достоверное уменьшение Гр зафиксировано только в дозе 50 мг/кг (0,2 ± 0,1; $p \leq 0,05$), а Деф – в дозе 5 мг/кг (0,3 ± 0,2; $p \leq 0,05$) и 25 мг/кг (1,2 ± 0,2; $p \leq 0,05$).

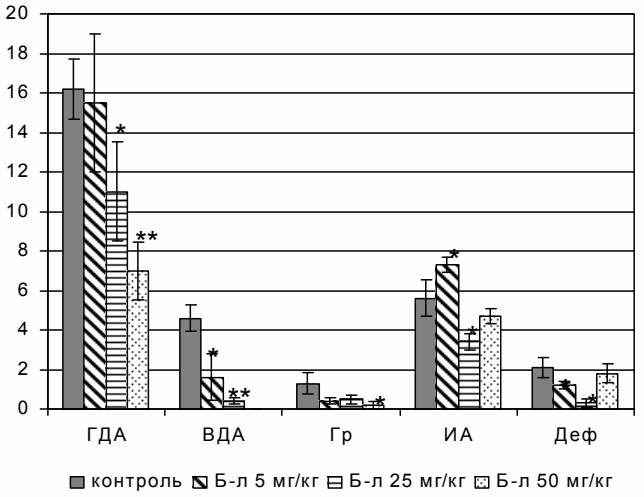


Рис. 1. Влияние бензимидазола (Б-л) в различных дозах на поведенческие реакции крыс в тесте открытое поле: ГДА – горизонтальная двигательная активность; ВДА – вертикальная двигательная активность; Гр – груминг; ИА – исследовательская активность; Деф – дефекации. По оси ординат – количество поведенческих актов.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что бензимидазол в диапазоне доз 5, 25 и 50 мг/кг снижает двигательную активность и показатели психоэмоционального состояния крыс. По-видимому, данное соединение обладает седативным действием на поведение.

При анализе полученных эффектов возникает вопрос о возможных точках приложения бензимидазола. Известно, что общая двигательная активность (а именно ГДА, ВДА и ИА) является поведенческим маркером возбуждения/торможения ЦНС, которое находится под контролем корковых и лимбических механизмов и регулируются рядом центральных возбуждающих медиаторов [17]. Некоторые авторы считают, что посредством медиаторных систем реализуются те или иные изменения поведения животных [1, 17, 18]. Поскольку серотонин, норадреналин, дофамин и ГАМК участвуют в регуляции многих форм

поведения и физиологических реакций, то можно полагать, что бензимидазол может воздействовать на ту или иную медиаторную систему. Возможно, бензимидазол блокирует выделение возбуждающих медиаторов или является их антагонистом.

Тест черно-белая камера

В этом тесте выявлено, что бензимизадол приводит к снижению, как частоты, так и времени выглядываний и выходов в светлый отсек камеры (рис. 2). Из рисунка видно, что по сравнению с контролем (1,0 ± 0,4) в дозах 25 и 50 мг/кг достоверно снижается частота выглядываний животных (до 0,3 ± 0,2; $p \leq 0,05$), а время выглядываний от контрольных значений (3,5 ± 1,5 с) сокращается до 0,7 ± 0,4 с ($p \leq 0,05$). В дозе 25 мг/кг отмечалось и снижение количества Деф. Так, в контроле значения данного показателя составляли 1,8 ± 0,7, а после введения бензимизадола – 0,3 ± 0,1. Таким образом, в дозах 25 и 50 мг/кг бензимизадол проявляет анксиогенные свойства, что указывает на активацию им в ЦНС процессов торможения.

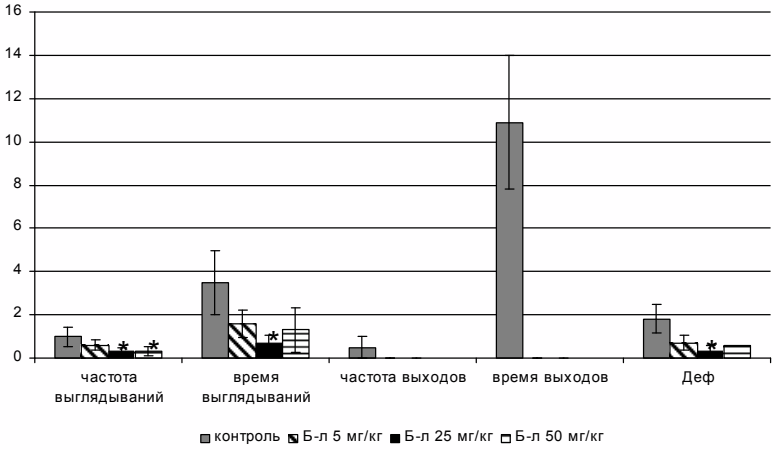


Рис. 2. Эффекты бензимидазола в тесте черно-белая камера.
По оси ординат – количество и время поведенческих актов.

Эффекты бензимидазола в крестообразно-приподнятом лабиринте

Еще одной моделью «ситуативной» тревожности животных является КПЛ, в котором свою активность способно проявить большинство их известных классов анксиотропных препаратов [13 – 15]. Наши исследования показали (рис. 3), что в дозах 5 и 50 мг/кг длительность пребывания животных в открытых рукавах по сравнению с контролем (99,1 ± 37,5 с) достоверно уменьшалась до 33,0 ± 13,7 ($p \leq 0,05$) и 1,8 ± 0,4 ($p \leq 0,01$) соответственно. Длительность же нахождения животных в закрытых рукавах, наоборот, повышалась в соответствии с контролем (200,9 ± 37,2 с) до 267 ± 13,7 с ($p \leq 0,05$) и 270,9 ± 13,3 с ($p \leq 0,05$) соответственно, а число выходов в закрытый рукав по сравнению с контролем 2,0 ± 0,6 значительно увеличивалось в дозе 5 мг/кг до 14 ± 3,6. Показатель ВДА, отражающий исследовательскую активность, достоверно уменьшался до 0,9 ± 0,5 ($p \leq 0,05$) в соответствии с контролем 3,8 ± 1,5. При дозе 25 мг/кг зафиксировано снижение

интенсивности Деф и частоты актов Гр до 0,2 ± 0,1 ($p \leq 0,05$) и 0,4 ± 0,2 ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (1,1 ± 0,5) и (1,2 ± 0,7) соответственно, в дозе 50 мг/кг – угнетение интенсивности дефекаций до 0 ($p \leq 0,05$). Таким образом, наши данные показывают, что крысы при внутрибрюшинной инъекции бензимидазола предпочитают менее опасные закрытые рукава, которые отражают степень страха животного. Эти результаты свидетельствует об анксиогенном эффекте вещества.

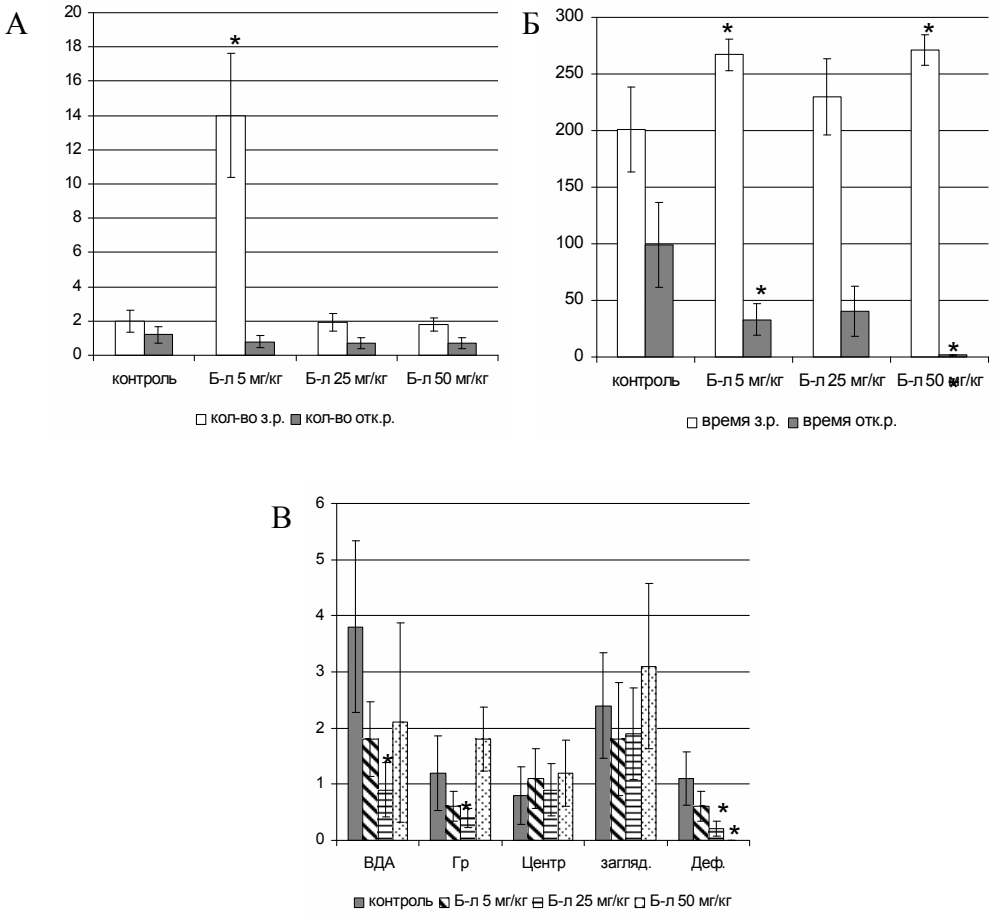


Рис. 3. Эффекты бензимидазола в тесте крестообразно-приподнятый лабиринт:

А – количество выходов крыс в открытые и закрытые рукава лабиринта; Б – время выходов крыс в открытые и закрытые рукава лабиринта; В – другие поведенческие маркеры, используемые в лабиринте: отк.р. – число и время (в секундах) выходов в открытые рукава лабиринта; з.р. – число и время выходов в закрытые рукава лабиринта; ВДА – вертикальная исследовательская активность (число стоек); загляд. – количество заглядываний вниз из концов закрытых рукавов (оценка риска); Центр – число переходов через центральную платформу лабиринта; Гр – груминг; Деф. – число дефекаций.

Эффекты бензимидазола в тесте Порсолта

В данном тесте (рис. 4) бензимидазол вызывал достоверное увеличение времени активного плавания до 264,1 ± 8,5 с ($p \leq 0,01$) по сравнению с контролем (141,8 ± 7,2 с) при дозе вещества 5 мг/кг и его уменьшение до 23,9 ± 4 ($p \leq 0,05$) при дозе 50 мг/кг, тогда как время пассивного плавания в этой же дозе значительно увеличилось по сравнению с контролем (40,1 ± 6,2 с) до 156,1 ± 4,0 с ($p \leq 0,01$). При анализе времени (латентный период) первого зависания отмечена тенденция к его увеличению. Количество актов освобождения от воды (выпрыгивания, умывания и отряхивания головы) при действии бензимизадола достоверно изменялось в дозе 5 мг/кг с увеличением показателей Гр до 1,7±0,4 ($p \leq 0,05$) относительно контроля (0,7 ± 0,3) и снижением количества выпрыгиваний до 6,2 ± 1,3 ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (10,7 ± 2,0), а в дозе 25 мг/кг – до 6,1 ± 1,6 ($p \leq 0,05$).

Из литературы известно [19, 20] что крысы, вынужденные длительно плавать без возможности выбраться из воды, после начального периода активных попыток, обычно резко снижают свою активность до минимума, необходимого только для удержания головы на поверхности. При этом стадия иммобильности, или «зависания» интерпретируется как проявление «отчаяния» [21, 22]. Поскольку, по нашим данным так называемое «отчаяние» при действии бензимидазола наступало позже, чем в контроле, можно думать, что вещество подавляло депрессию животных. В общем, на основании увеличения времени активного плавания при дозе бензимидазола 5 мг/кг можно с уверенностью говорить о наличии у него антидепрессантных свойств.

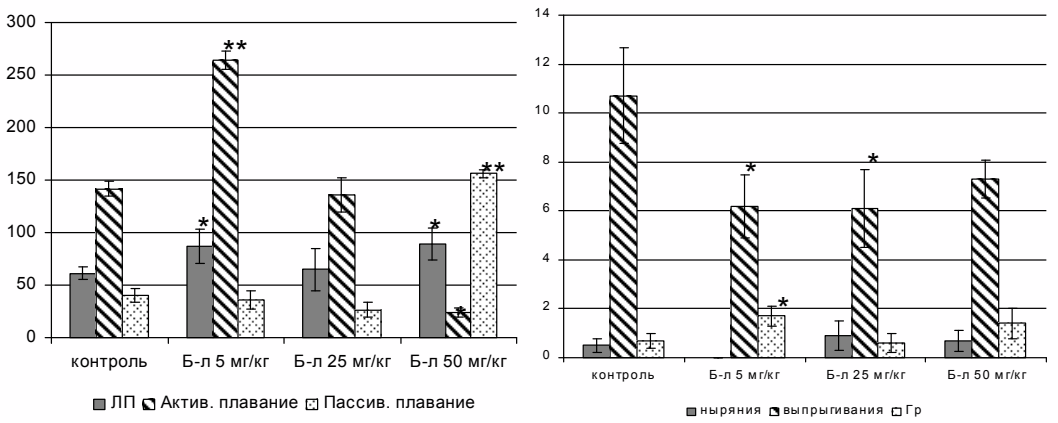


Рис. 4. Эффекты бензимидазола (Б-л) в тесте Порсолта: ЛП – латентный период первого зависания, Актив. плавание – активное плавание крыс, Пассив. плавание – пассивное плавание, Гр – груминг

Тест подвешивание за хвост

Следует отметить, что кроме теста Порсолта, который отражает уровень депрессии животных, используют также и тест подвешивания за хвост. В наших экспериментах. При введении вещества во всех дозах наблюдалось увеличение времени иммобильности (рис. 5), т. е. увеличивался страх и тревога животного,

однако достоверное увеличение времени иммобильности выявлено только в дозе 25 мг/кг (до 28,9 ± 3,0 с, $p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (20,3 ± 2,3 с). Хотя полученные данные и свидетельствуют об отсутствии антидепрессантных свойств у данного соединения, в тесте Порсолта получены противоположные результаты в дозе бензимидазола 5 мг/кг, которые убедительно доказывают наличие у бензимидазола антидепрессантного профиля.

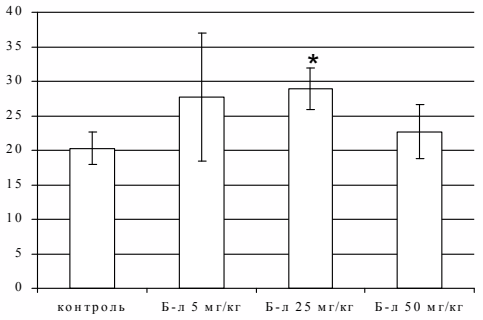


Рис. 5. Влияние бензимидазола на поведение крыс в тесте подвешивание за хвост. По оси ординат время в сек.

ВЫВОДЫ

1. Бензимидазол обладает дозозависимым седативным действием на поведение крыс.
2. По данным тестов черно-белая камера и крестообразно-приподнятый лабиринт бензимидазол во всех использованных дозах проявляет анксиогенные свойства.
3. Бензимидазол в дозе 5 мг/кг оказывает антидепрессантное действие.

Список литературы

1. Калуев А. В. Стресс, тревожность и поведение / Калуев А. В. – К.: Энигма, 1998. – 92 с.
2. The free-exploratory paradigm: an effective method for measuring neophobic behaviour in mice and testing potential neophobia-reducing drugs / Griebel G., Belzung C., Misslin R. [at al.] // Behav. Pharmacol. – 1993. – N 4. – P. 673–644.
3. Griebel G. The use of the rat elevated plus-maze to iscriminate between non-selective and BZ-1 (w1) selective, benzodiazepine receptor ligands / G. Griebel, D. J. Sanger, G. Perrault // Psychopharmacol. – 1996. – V. 124. – P. 245–254.
4. Salum C. Anxiety-like behavior in rats: a computational model / C. Salum, S. Morato, C. Roque-da-Silva // Neural Networks. – 2000. – V. 13. – P. 21–29.
5. Haefely W. General Pharmacology and neuropharmacology of benzodiazepine derivatives: / W. Haefely // In: Psychotropic Agents, Part 2: Anxiolytics, Gerontopsychopharmacological Agents, and Psychomotor Stimulants, Eds F. Hoffmeister, G.Stille, Springer-Verlag, Berlin, New York, 1981, P. 60-69.
6. Haefely W. The role of GABA in anxiolytic antidepressant drug action / Haefely W. In: Experimental Approaches to Anxiety and Depression. Willey and Sons, Chichester. – 1992. – P. 151–168.
7. Nutt D. J. The pharmacology of human anxiety / D. J. Nutt // Pharmacol. Therapy. – 1990. – V.47. – P. 233–266.
8. Nutt D. J. GABA-A receptors. Receptor Data for Biological Experiments: a Guide to Drugs Selectivity / Nutt D. J. – L.: Ellis Horwood. – 1991. – P. 225–229.
9. Коренюк И. И. Влияние бензимидазола на нейроны моллюска / И. И. Коренюк, Т. В. Гамма // Ученые записки ТНУ, серия «Биология». – 2004. – Т. 17 (56), № 1. – С. 42–47.

10. Лапин И.П. Уменьшение частоты выглядываний из темного отсека – единственный постоянный показатель влияния анксиогенов на поведение мышей в камере «свет-темнота» / Лапин И.П. // Журнал ВНД им. И. П. Павлова. – 1999. – Т. 49, № 3. – С. 521–526.
11. Factor analysis shows that female rat behavior is characterised primarily by activity, male rats are driven by sex and anxiety / Fernandes C., Gonzales M. I., Wilson C. [et al.] // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1999. – V. 64. – P. 731-738.
12. Learned fear, emotional reactivity and fear of heights: a factor analytic map from a large F2 intercross of Roman rat strains / A. Agular, L. Gil, J. Flint [et al.] // Brain Res. Bull. – 2002. – V. 57, N. 1. – P. 17–26.
13. Dawson G. R. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents / G. R. Dawson, M. D. Tricklebank // Tr. Pharmacol. Sci. – 1995. – V. 16. – P. 33–36.
14. Animal models of different anxiety states / S. E File, G. Biggio, E. Sanna [et al.] // In: GABA-A receptors and Anxiety: From Neurobiology to Treatment, N. Y.: Raven Press. – 1995. – P. 93–113.
15. File S. E. Factors controlling measures of anxiety and responces to novelty in the mouse / S. E. File // Behav. Brain Res. – 2001. – V. 125. – P. 151–157.
16. Влияние 3-метил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-бензодиазепин-она на поведенческие реакции крыс / И. И. Коренюк, Т. В. Гамма, Т. М. Ладыгина [и др.] // Ученые записки ТНУ, серия «Биология». – 2006. – Т. 19 (58), № 4. – С. 121–126.
17. Калуев А. В. Груминг и стресс. / Калуев А. В. – М.: АВИКС. – 2002. – 161 с.
18. Маркель А. Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля / А. Л. Маркель // Журн. высш. нервн. деятельности. – 1981. – Т. 31, №2. – С. 301–307.
19. Porsolt R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, M. Le Pinchon, M. Jalfre // Nature. – 1977. – V. 266. – P. 730-732.
20. Psychotropic screening procedures. R. D. Porsolt, R. A. McArthur, A. Lenegre [at. al] // Methods in Behavioral Pharmacology. – 1993. – P. 23–51.
21. Willner P. Animal models of stress: An overview: In: Methods in Neurosciences (V. 14, Paradigms for the Study of Behavior) / P. Willner, P. M. Conn //Academic Press, San Diego, New York. – 1993. – P.145–162.
22. Willner P. Animal models of depression: validity and applications / P. Willner, G. L. Gessa, W. Fratta [et al.] // Depression and Mania. Advances in Biochemical Psychopharmacology. – 1995. – V. 49. – P. 19–41

Гамма Т.В., Єпішкін І.В., Коренюк І.І., Аблаєва У.Д, Репетій М.І., Хусаінов Д.Р., Катюшина О.В. **Психотропні ефекти бензимідазолу в експериментальних моделях стресу у щурів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т. 22 (61). – № 2. – С. 16-23.

В умовах тестів відкрите поле, чорно-біла камера і хрестоподібно-піднятий лабіринт при внутрішньочеревинній ін'єкції щурам показано, що бензимідазол має дозозалежну седативну та анксиогенну дію на поведінку щурів. За результатами тесту Порсолта і підвішування за хвіст бензимідазол тільки в дозі 5 мг/кг надає антидепресантної дії. Подальше підвищення дози речовини призводить до прояву депресивності тварин.

Ключові слова: бензимідазол, відкрите поле, чорно-біла камера, тест Порсолта, підвішування за хвіст, хрестоподібно-піднятий лабіринт, поведінка щурів

Gamma T.V., Epishkin I.V., Korenyuk I.I., Ablaeva U.D., Repetiy M.I., Husainov D.R., Katjushina O.V. **The psychotropic effects of benzimidazole on experimental models of stress at rate //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2.– P. 16-23.

Under conditions of tests an open field, black-and-white chamber and the crosswise raised labyrinth is shown, that benzimidazole depending on a doze has sedative and anxiolitic action on a rate behavior. By results of the Porsolt test and tail-hanging benzimidazole only in a doze 5 mg/kg renders antidepressante action. The further increase of a doze of substance results to depression display of animal

***Keywords*:** residual benzimidazole, open field, black-and-white chamber, Porsolt test, tail-hanging, the, crosswise - raised a labyrinth, behavior rate

Поступила в редакцию 15.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 24-32.

УДК 591.169/172:595.12:615.84

ДИНАМИКА СКОРОСТИ ДВИЖЕНИЯ ПЛАНАРИЙ, РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ

Демцун Н.А., Темурьянц Н.А., Баранова М.М.

На основе компьютерных технологий анализа изображения разработан способ определения скорости движения планарий. Выявлена высокая положительная корреляция между этим показателем и индексом регенерации (r = 0,95). Показано, что при электромагнитном экранировании скорость движения возрастает в 1,2 раза больше, чем индекс регенерации.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, Dugesia tigrina, регенерация, скорость движения.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время планарии широко используются для изучения феноменологии и механизмов действия различных экологических факторов и в частности электромагнитных излучений [1 – 3] . Это связано с тем, что планарии, являясь наиболее примитивными представителями современной фауны, обладают уникальной способностью к регенерации целого организма из мельчайших фрагментов тела [4].

Регенерация планарий достаточно полно изучена [5, 6]. Исследована структура необластов – тотипотентных резервных клеток [7 – 9], молекулярные аспекты регуляции регенерации [10], гены, контролирующие этот процесс [6]. Регенерация планарий характеризуется не только структурными, биохимическими перестройками, но и изменениями поведенческих реакций. Последние изучены совершенно недостаточно. Адекватной характеристикой поведенческих реакций являются локомоторная активность, скорость движения. Способ определения скорости движения у планарий не разработан. В связи с изложенным, целью исследования явилась разработка способа определения скорости движения планарий и изучение ее динамики при регенерации, протекающей в различных условиях.

Задачи работы:

1) разработка способа регистрации скорости движения планарий;
2) определение взаимосвязи индекса регенерации и скорости движения интактных и регенерирующих животных;
3) исследование влияния электромагнитного экранирования различной продолжительности на скорость движения регенерирующих планарий;
4) сопоставление изменений индекса регенерации и скорости движения планарий, регенерирующих в различных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована лабораторная бесполая раса планарий Dugesia tigrina, культура которой успешно культивируется в Таврическом национальном университете им. В.И. Вернадского (ТНУ). Планарии содержатся в пластиковых аквариумах объемом по пять литров в воде, представляющей собой смесь дистиллированной и водопроводной воды в пропорции 1:1. Аквариумы находятся в затемненных условиях, температура воды в них поддерживается от 19-21°. Кормление животных осуществляется один раз в неделю личинками двукрылых (мотылем). Кормление прекращается за семь дней до эксперимента. Условия содержания планарий полностью соответствуют таковым в Институте биофизики клетки РАН, откуда животные были завезены в ТНУ.

Для изучения регенерации планарий и скорости их движения использована их прижизненная морфометрия, использующая компьютерные технологии анализа изображений.

Для разработки способа определения скорости движения планарий важное значение имеет их способность к достаточно длительному однонаправленному движению в горизонтальной плоскости, осуществляемому за счет мерцания ресничек [11].

Для получения стандартных изображений регенерирующих планарий применялась установка, подробно описана ранее [12]. С ее помощью возможно вычисление основных геометрических характеристик тела планарий, бластемы, и в частности индекса регенерации $R=S_1/S_2$, где S_1 – площадь бластемы, S_2 – площадь всего тела регенерата в данный момент времени.

Видеоизображения движущихся в воде планарий регистрировалась с частотой 30 кадров в одну секунду. Скорость движения планарий вычислялась отношением пройденного ею пути ко времени в одну секунду. Путь измерялся наложением двух участков одного видеоряда с соответствующей разницей во времени. Контрастирование проводилось при помощи стандартной операции «вычитания» для двух изображений (рис. 1).

Для решения поставленных задач был проведен эксперимент осенью (октябрь-ноябрь) 2008 года.

Для эксперимента отбирали червей, длина которых составила ≈ 10 ± 1 мм, т.к. у животных большего размера преобладают движения за счет сокращения мускулатуры [4].

Регенерация вызывалась ампутацией 1/5 части головного конца тела планарий, содержащей головной ганглий, выше фаринкса (разрез Мария Антуанетта). Декапитация проводилась под бинокулярным микроскопом глазным скальпелем в нестерильных условиях.

Декапитированные планарии делились на три группы по 30 особей каждая и помещались в стеклянные стаканы, содержащие по 50 мл воды.

Для животных всех групп в течение всего эксперимента поддерживался одинаковый режим освещенности, температуры.

Животные первой группы служили биологическим контролем, то есть регенерация у них протекала без каких либо дополнительных воздействий.

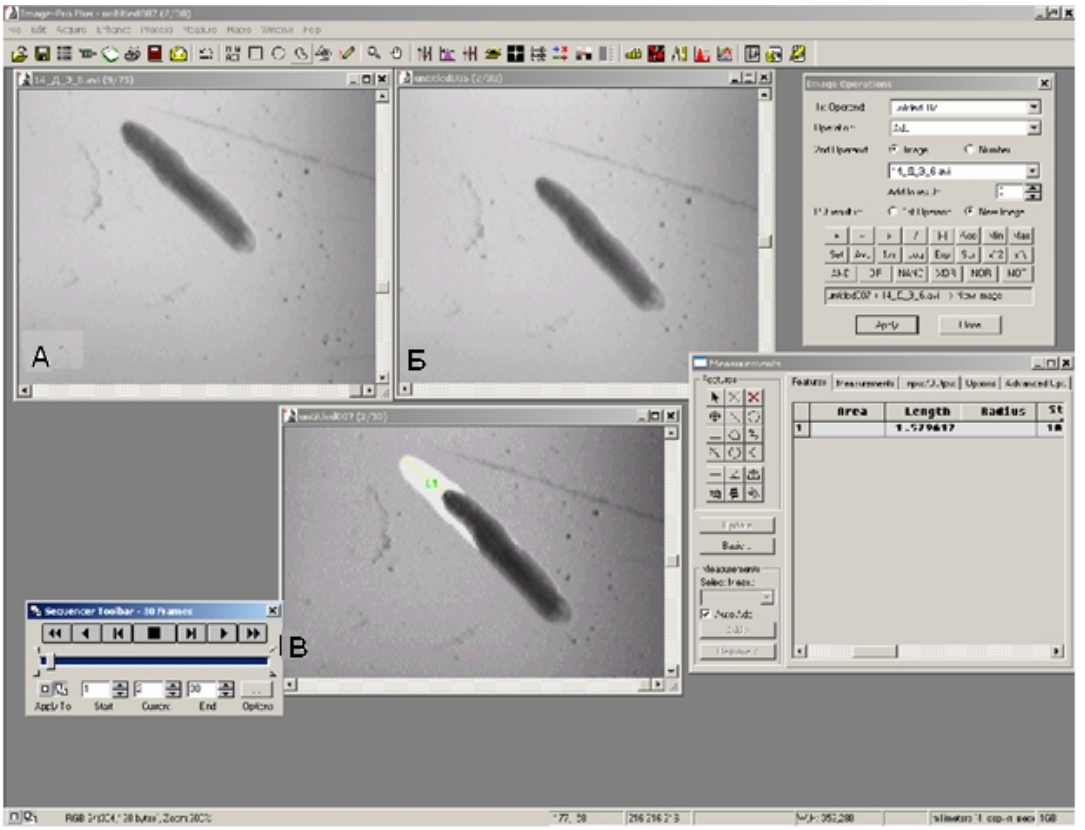


Рис. 1. Пример вычисления скорости движения планарии. (А, Б – участки видео ряда с разницей в одну секунду; В – результат наложения этих видеорядов при помощи покадрового вычитания изображений).

Планарии второй и третьей групп помещались в экранирующую камеру, конструкция которой была описана ранее [13]. Длительность пребывания в камере у планарий второй и третьей групп была различной.

Вторую группу содержали в экранирующей камере 23 часа в сутки в течение 15 дней. Ежедневно в течение одного часа (всегда в одно и тоже время с 10 до 11 час.) проводили контроль регенерационных процессов, измерение температуры воды и т.д.

Животных третьей группы содержали в экранирующей камере ежедневно в течении одного часа (с 10 до 11 час.), а остальное время суток они находились в условиях, одинаковых с контрольной группой животных.

Фиксация изображений осуществлялась у животных всех групп ежедневно в течение 15 дней в одно и то же время суток.

Обработку экспериментальных данных проводили с помощью непараметрических методов. Вычислялась медиана (М), интерквантильный интервал между 25м и 75м процентилями, включающий 50% значений признака в выборке. Для изучения взаимосвязи изученных показателей использовали

корреляционный анализ по Спирмену. Оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни и Вилкоксона.

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excell, программного пакета «STATISTICA – 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что индекс регенерации интактных животных со вторых по 13 сутки эксперимента возрастал с 0,01049 усл.ед по 0,107191 усл.ед. В динамике этого показателя отмечены периоды, когда он не изменялся. Так, на пятые и 11 сутки эксперимента данный показатель не возрастал относительно значений предыдущих четвертых и десятых суток соответственно. С 13 суток наблюдения рост индекса регенерации остановился, что может свидетельствовать об остановке роста бластемы. Этот вывод подтверждается полным формированием глаз и «ушей» у всех животных данной группы к этому сроку, а так же нулевые значения скорости индекса регенерации. Таким образом, регенерация интактных планарий протекала 13 суток (рис. 2).

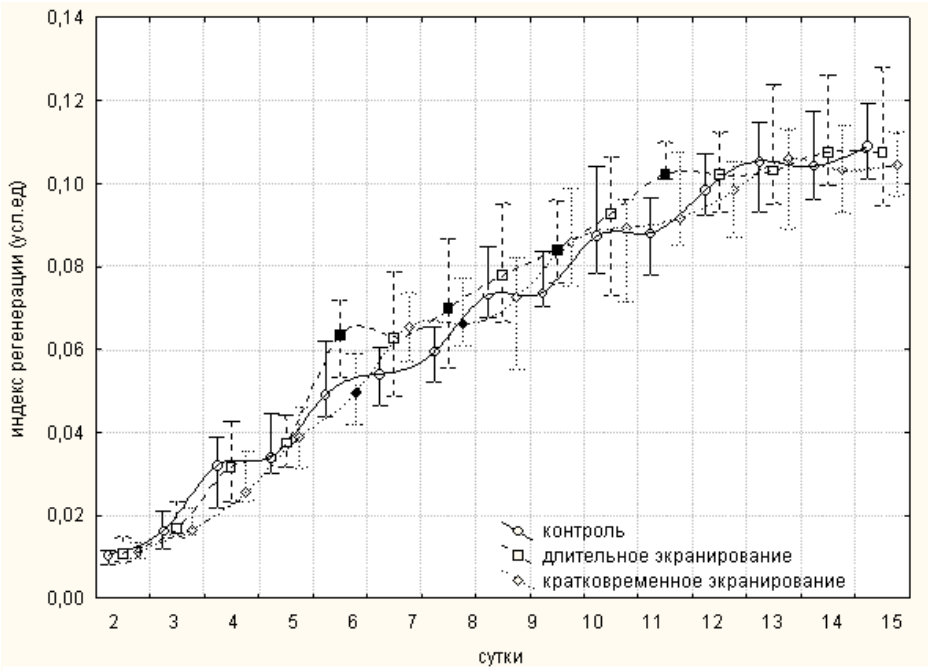


Рис. 2. Динамика индекса регенерации планарий в различных экспериментальных группах (осень 2008 года).

Заштрихованные точки – $p<0,05$, по сравнению с контрольной группой; не заштрихованные – $p>0,05$.

При сравнении результатов исследований, проведенных осенью, с данными, полученными нами в летних и зимних экспериментах [13], выяснено, что индекс

регенерации с третьих по 15 сутки эксперимента был на 26-52% ниже, чем летом, но на 52% – 115% выше, чем зимой. Кроме того, остановка роста бластемы в летнее время зафиксирована на двое суток раньше, чем осенью – на 11 сутки эксперимента.

Таким образом, регенерация планарий осенью протекает более быстро, чем зимой, но медленней, чем летом.

Вместе с возрастанием индекса регенерации планарий контрольной группы прогрессивно нарастала и скорость их движения. Со вторых по десятые сутки она увеличивалась с 1,0336 мм/сек до 1,4634 мм/сек, а с десятых по 12 сутки имело место возрастание этого показателя на 25% относительно десятых суток, который достигал 1,8204 мм/сек. На 12 сутки отмечен скачок данного показателя до 1,8294 мм/сек с последующим его падением к 13 суткам до 1,6374 мм/сек. Своего максимального значения скорость движения животных интактной группы достигала к 14 суткам эксперимента, когда она составила 1,9217 мм/сек и практически не изменялась в последующие дни наблюдения. Эти значения соответствуют скорости движения интактных планарий, измеренной до отсечения головы (1,83 – 2,15 мм/сек).

Таким образом, скорость движения планарий стабилизируется позже, чем индекс регенерации, что может свидетельствовать о том, что совершенствование функциональных возможностей регенерирующих планарий продолжается и после остановки роста бластемы.

Прогрессирующее возрастание скорости движения при регенерации головного конца планарий может быть связано с несколькими причинами, как-то: развитием головного мозга, аппарата движения, а так же усовершенствованием сенсорных систем.

Корреляционный анализ выявил высокий коэффициент корреляции ($r = 0,9582$, $p<0,001$) между скоростью движения и индексом регенерации. Таким образом, можно утверждать, что динамика скорости движения планарий адекватно характеризует процесс регенерации планарий.

Электромагнитное экранирование стимулирует регенерацию планарий. Так, у животных, находившихся в экранирующей камере по 23 часа в сутки, начиная с третьих суток эксперимента индекс регенерации был выше относительно такового контрольной группы. Максимальные различия индексов регенерации были зафиксированы на шестые сутки эксперимента, когда они различались на 29%. С 12 суток рост данного показателя прекратился. Таким образом, продолжительность регенерации, протекающей в условиях длительного экранирования, сокращалась на одни сутки по сравнению с контрольной группой животных. В динамике индекса регенерации планарий, подвергавшихся длительному электромагнитному экранированию, заметна периодическая составляющая (рис.3).

Данные проведенных экспериментов согласуются с результатами наших исследований, проведенных летом и зимой [13]. Однако при сравнении результатов становится очевидной зависимость степени стимуляции регенерации электромагнитным экранированием от исходного уровня регенерации.

В условиях продолжительного электромагнитного экранирования индекс регенерации в осенней серии экспериментов возрастал более, чем в зимнее время, но медленнее, чем летом. Эти данные находятся в полном соответствии с законом начальных значений [14].

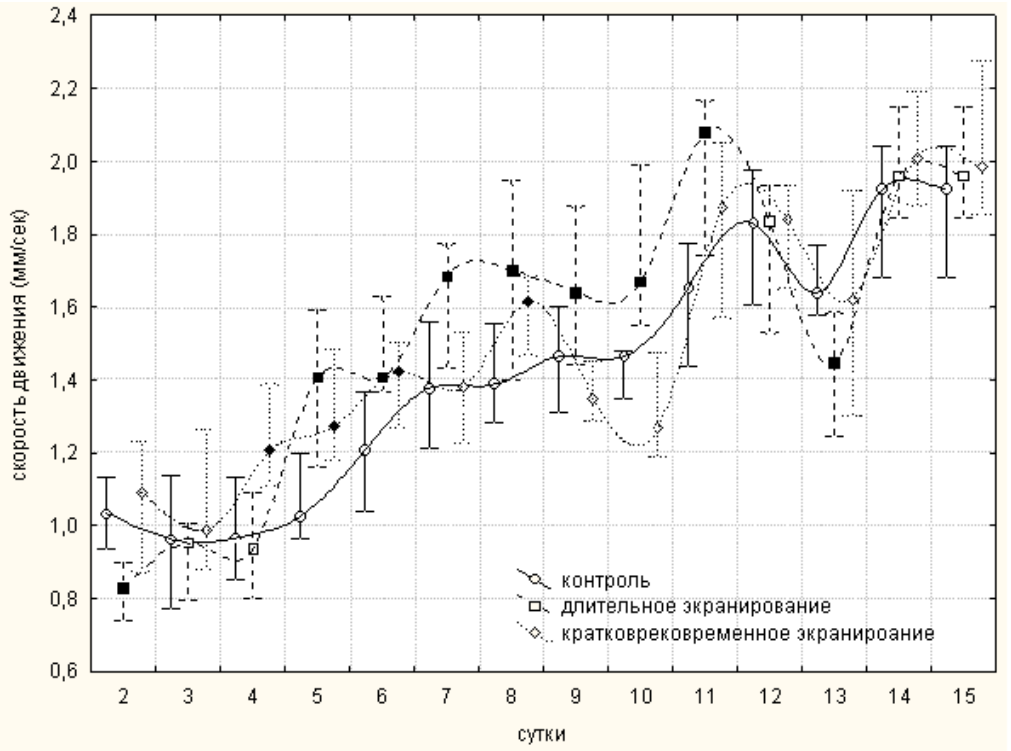


Рис.3. Динамика скорости движения планарий в контрольной группе, животных, подвергнувшихся длительному и кратковременному электромагнитному экранированию.

Примечание: заштрихованные точки – $p<0,05$, по сравнению с контрольной группой; не заштрихованные – $p>0,05$.

Скорость движения планарий, подвергавшихся длительному электромагнитному экранированию, по сравнению с данными контрольной группы, так же возрастала, но позже чем, индекс регенерации. На вторые сутки эксперимента изученный показатель составил 0,829 мм/с, что на 20% ниже скорости движения интактных животных. В последующие сутки отмечено нарастание скорости движения. Так на четвертые сутки скорость движения планарий составила 0,935 мм/сек, а на пятые уже 1,405 мм/сек ($p<0,05$), что на 37% выше таковых интактных животных, к восьмым суткам значения данного показателя выросли до 1,7017 мм/сек, что на 23 % выше значений контрольной группы. С восьмых по десятые сутки была отмечена тенденция к падению этого показателя. Максимум данного показателя был отмечен на 11 сутки эксперимента – 2,079 мм/с, что на 26% выше значений контрольной группы в данные сроки. В последующие сроки было отмечено значительное падение скорости движения до 1,4446 мм/сек (на 13 сутки), с последующим ее ростом. Так к 14 суткам скорость движения планарий достоверно не отличалась от таковой интактных животных. Таким образом, в динамике скорости движения ярко проявлялась ритмическая составляющая (рис. 4).

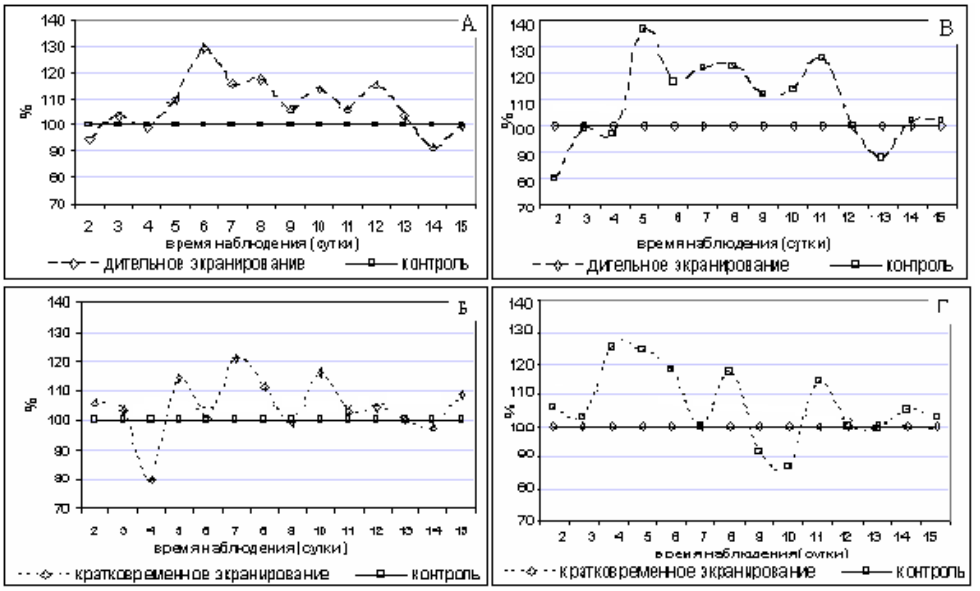


Рис. 4. Динамика скорости регенерации (А, Б) и скорости движения планарий (В, Г) в группах животных подвергнутых длительному и кратковременному электромагнитному экранированию в процентах относительно контрольных значений.

Корреляционный анализ выявил высокую положительную корреляцию между скоростью движения и индексом регенерации у животных этой группы (0,8009, $p<0,001$). Некоторое его снижение относительно данных контрольной группы возможно связано с возрастанием ритмической составляющей в динамике скорости движения.

Таким образом, длительное электромагнитное экранирование приводит к возрастанию индекса регенерации и скорости движения планарий.

Кратковременное периодическое электромагнитное экранирование так же приводит к росту индекса регенерации. Значения данного показателя отличались от таковых контрольной группы животных, на седьмые, восьмые и десятые сутки эксперимента на 21%,11% и 16% соответственно.

Скорость движения планарий данной группы нарастала с третьих по шестые сутки от 0,9877 мм/сек до 1,422 мм/сек. К восьмым суткам эксперимента значения данного показателя отличались от таковых контрольной группы животных на 17% (1,616 мм/сек, $p<0,05$). На девятые – десятые сутки скорость движения планарий была ниже значений интактных животных на 8%, 13% соответственно. На 13 сутки эксперимента так же как и в других группах животных было отмечено падение скорости движения планарий. В последующие сутки эксперимента наблюдаемые изменения были незначительными.

Взаимоотношения между значениями индекса регенерации и скоростью движения планарий данной группы характеризуются положительным коэффициентом корреляции, равным 0,8769 ($p<0,001$).

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что регенерация планарий сопровождается прогрессивным возрастанием скорости их движения.

Эта закономерность сохраняется в условиях электромагнитного экранирования различной продолжительности. Однако, обращает на себя внимание тот факт, что скорость движения при экранировании возрастает гораздо больше, чем индекс регенерации. Так, при длительном электромагнитном экранировании индекс регенерации возрастает в 16 раз по сравнению с контролем, а скорость движения в 19,5 раз. При кратковременном пребывании регенерирующих планарий в гипомагнитной среде скорость движения возрастает в 1,2 раза больше, чем индекс регенерации.

На основании этих данных можно заключить, что скорость движения является более чувствительным показателем, характеризующим реакцию регенерирующих планарий на действие гипомагнитного поля, чем индекс и скорость регенерации.

Учитывая то, что движение планарий, анализируемое нами, реализуется за счет мерцания ресничек, можно предположить, что электромагнитное экранирование изменяет их функциональную активность. Это предположение подтверждается данными экспериментов, проведенных как in vitro, так и in vivo. Так, было обнаружено ингибирование цилиарного аппарата эпендимоцитов у новорожденных крыс в условиях гипомагнитного поля [15]. В более поздних работах описано возрастание скорости движения и жизнеспособности человеческих сперматозоидов при их культивировании в нулевом магнитом поле [16].

Таким образом, при электромагнитном экранировании скорость движения регенерирующих планарий возрастает. Возможно, это связано изменением функционального состояния ресничек. Полученные данные значительно расширяют представления о возможных механизмах действия ослабленных магнитных полей.

ВЫВОДЫ

1. Разработан способ определения скорости движения планарий.
2. Скорость движения регенерирующих планарий коррелирует с индексом регенерации (r= 0,9582).
3. Скорость движения интактных планарий, как и индекс их регенерации, в условиях электромагнитного экранирования различной продолжительности возрастают.
4. Скорость движения планарий при электромагнитном экранировании возрастает в 1,2 - 1,25 раза больше, чем индекс регенерации.

Список литературы

1. Влияние слабого комбинированного магнитного поля на скорость регенерации планарий Dugesia tigrina / Х.П. Тирас, Л.К. Сребницкая, Е.Н. Ильясова, В.В. Ледне // Биофизика. – 1996. – Т. 40, №4. – С. 826-831.
2. Влияние слабых и сверхслабых комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей и миллиметровых волн низкой интенсивности на регенерацию планарий Dugesia tigrina / В.В. Новиков, И.М. Шейман, А.В. Клюбин, Е.Е. Фесенко// Биофизика. – 2007. – Т.53, №2. – С. 372 – 375.
3. Новиков В.В. Влияние слабых и сверхслабых магнитных полей на интенсивность бесполого

размножения планарий Dugesia tigrina / В.В. Новиков, И.М. Шейман, Е.Е. Фесенко // Биофизика. – 2002. – Т.47, №1. – С. 125-129.
4. Regeneration and pattern formation in planarians: cells, molecules and genes / Baguna J., Salo E., Romero R., Garcia-Fernandez C. // Zool. Sci.- 1994. – Vol. 11. – P. 781 - 795
5. From Planarians to Mammals - the many faces of regeneration // J.Moraczewski, K. Archacka, E. Brzoska, M. Ciemerych, I. Grabowska, K.Janczyk-ilach, W. Streminska, M. Zimowska // Int J Dev Biol – 2008.- Vol. 52, - P. 2189-227
6. Planarian regeneration: achievements and future directions after 20 years of research / E. Saló, J. Abril, T. Adell, F. Cebrià at all. // Int. J. Dev. Biol. – 2008.- Vol. 52 [In Press]
7. Baguna J. Quantitative analysis of ceii types during growth and regeneration in the planarians Dugesia mediterranea and Dugesia tigrina / J. Baguna, R . Romero // Hydrobiologia - 1981. – Vol 84. - P. 181-194.
8. Genetic network of the eye in Platyhelminthes: expression and functional analysis of some players during planarian regeneration / Saló E., Pineda D., Marsal M., González J., Gremigni V., Batistoni R. // Gene - 2002.- Vol. 287. - P. 67-74
9. Sánchez-alvarado A. Planarian regeneration: its end is its begining / A. Sánchez-alvarado // Cell – 2006.- Vol. 124. – P. 241-245.
10. Effects of organophosphorus insecticides on Dugesia tigrina: Cholinesterase activity and head regeneration / D. Villar, M. González, M. J. Gualda, D. J. Schaeffer // Bull. Environ. Contain. Toxicol. – 1994 – Vol. 52 – P. 319-324
11. Догель В.А. Зоология беспозвоночных – изд. седьмое переработанное – М: Высшая школа, 1981. – 660 с.
12. Установка для прижизненной морфометрии регенерации планарий/ В.Г. Вишневский, М.М. Махонина, Н.А., Демцун, Н.А. Темурьянц // Ученые записки Таврического национального университета им.В.И. Вернадского. Серия «Биология. Химия» - 2007. – Т.20 (59). -№4. – С.18-21
13. Влияние электромагнитного экранирования различной продолжительности на регенерацию планарий Dugesia tigrina / Н.А. Демцун, М.М. Махонина, Н.А. Темурьянц, В.С. Мартынюк // Физика живого. – 2008. - Т.16. -№1.- С. 68-73.
14. Плеханов Г.Ф. Зависимость реакции биосистемы на раздражитель от ее исходного значения / Г.Ф. Плеханов, Н.В. Васильев, Т.И. Козлова // Бюл. Сиб. отд. АМН СССР. – 1989. – № 2. – С. 83-86.
15. Sandodze V. Effect of hipomagnetic fields on motility of the ependimal cells in vivo / V. Sandodze, I.K.Swnidze, E.V. Didimona // Radiats Biol.Radioecol.- 1995.- Vol. 1.- P. 19-22.
16. Truta Z Zero magnetic field influence on in vitro human spermatozoa cells behavior / Z.Truta, S.Neamtu, V.Morariu // Romanian J. Biophys. – 2005. – Vol. 15. – P. 73-79

Демцун Н.О., Темур:янц Н.А., Баранова М.М. **Дінаміка швидкості руху планарій які регенеріруют в умовах електромагнітного екранування. //** Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т. 22 (61). – № 1. – С. 24-32.

Розроблена методика визначення швидкості руху планарій. Показано, що швидкість руху як і індекс регенерації в умовах електромагнітного екранування зростає. При тривалому електромагнітному екрануванні швидкість руху зростає в 1,2 разів більше, ніж індекс регенерації. Виявлена висока позитивна кореляція між даними показниками (r = 0,95).

Ключові слова: електромагнітне екранування, *Dugesia tigrina,* регенерація, швидкість руху.

Demtsun, N.A., Temuryants N.A., Baranova M.M. **Dynamics in the mobility of planaria that are regenerating under the conditions of electromagnetic shielding //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 1. – P. 24-32.

Based upon the techniques of computer image analysis we have developed a method of calculating the velocity of planaria movement. A strong positive correlation was found between this parameter and the index of regeneration (r=0.95). It has been shown that under the conditions of electromagnetic shielding, the velocity of planaria movement increases 1.2 times greater that the index of regeneration.

Key words: electromagnetic shielding, *Dugesia tigrina,* regeneration, movement velocity

Поступила в редакцию 05.04.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 33-39.

УДК 582.594.2:281

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ НА РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПЛАНАРИЙ *DUGESIA TIGRINA*

Демцун Н.А., Туманянц К.Н., Темурьянц Н.А.

Исследовано влияние электромагнитного излучения частотой 42,3 Ггц, плотностью потока мощности 0,1мВт/ см^2 на регенерацию планарий. Обнаружено, что ЭМИ КВЧ стимулирует регенерацию планарий и изменяет многодневную ритмику ее параметров.

Ключевые слова: ЭМИ КВЧ, *Dugesia tigrina,* регенерация.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем экологической биофизики является изучение биологического действия низкоинтенсивных электромагнитных излучений (ЭМИ) различных диапазонов. Феноменология влияний этих факторов на организм человека и позвоночных животных достаточно хорошо изучена [1 – 3], однако механизмы их действия изучены недостаточно. Для решения этих вопросов перспективно использование в экспериментах простейших биологических систем, и в частности беспозвоночных. В последние годы реализован именно такой подход. В качестве объектов исследования используются моллюски [4, 5], плоские черви – планарии. Влияние слабых переменных и постоянных магнитных полей на планарии исследовано достаточно подробно [6 – 11]. В этих исследованиях подтверждены некоторые предположения о механизмах биологического действия переменных магнитных полей, в частности идеи о параметрическом магнитном резонансе, действии комбинированных магнитных полей и т.д. Иначе обстоит дело с электромагнитными излучениями (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ).

Между тем исследования зависимости изменений свойств этой системы от параметров ЭМИ КВЧ диапазона, роли водной среды в магниторецепции позволит значительно расширить представления о биологической активности ЭМИ КВЧ, а также сформулировать положения, необходимые для обсуждения механизмов действия этого раздражителя.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение слабых ЭМИ КВЧ на регенерацию планарий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована лабораторная бесполая раса планарий *Dugesia tigrina*, культура которая в настоящее время успешно культивируется в Таврическом национальном университете им. В.И. Вернадского. Условия культивирования

сходны с таковыми в Институте биофизики клетки РАН. Кормление планарий осуществляется один раз в неделю личинками двукрылых (мотылем) и прекращается за семь дней до начала воздействия ЭМИ. Для эксперимента отбирали животных, длина которых составила ≈ 10 ± 1 мм.

Регенерация вызывалась ампутацией 1/5 части головного конца тела планарий, содержащей головной ганглий, непосредственно под «ушами». Декапитация проводилась под бинокулярным микроскопом глазным скальпелем в нестерильных условиях.

Декапитированные планарии делились на две группы по 30 особей каждая и помещались в стеклянные стаканы, содержащие по 50 мл воды.

Животные первой группы служили биологическим контролем, то есть регенерация у них протекала без каких-либо дополнительных воздействий.

Животных второй группы ежедневно в течение 30 мин. (с 10 до 10^{30} час.) подвергались действию ЭМИ КВЧ, а остальное время суток они находились в условиях, одинаковых с контрольной группой животных.

Эксперименты проведены в июне 2008г. Для изучения воспроизводимости результатов исследование регенерации интактных планарий проведено также осенью 2008г.

В качестве источника ЭМИ КВЧ использован генератор Луч КВЧ – 071, изготовленный Центром радиофизических методов диагностики и терапии «Рамед» в Институте технической механики НАНУ (г. Днепропетровск). Частота излучения – 42, 3 Ггц, плотность потока мощности 0,1мВТ/ $см^2$.

Во время воздействия ЭМИ КВЧ животные находились в тефлоновых кюветах, излучатель фиксировался под ее дном. Контрольные животные находились во время воздействия ЭМИ КВЧ на планарий экспериментальной группы в таких же кюветах. Для животных обеих групп в течение всего эксперимента поддерживался одинаковый режим освещенности, температуры.

Ежедневно в течение одного часа после воздействия ЭМИ КВЧ проводили контроль регенерационных процессов, измерение температуры воды и т.д.

Для оценки динамики роста регенерационной почки (бластемы) применяли метод прижизненной морфометрии, использующий компьютерные технологии анализа изображений.

Подробное описание установки для прижизненной морфометрии, используемой в настоящем исследовании, представлено в наших предыдущих работах [12]. Фиксация изображений осуществлялась у животных всех групп ежедневно в течение 11 дней после перерезки в одно и то же время суток.

В качестве количественного показателя роста планарий нами использован индекс регенерации $R=S_1/S_2$, где S_1 - площадь бластемы, S_2 - площадь всего тела регенерата в данный момент времени [13]. Кроме того, подсчитывали скорость регенерации, т.е. изменение индекса регенерации за сутки (усл.ед./сутки).

Обработка изображений регенерирующих планарий проводилась слепым методом.

Обработку экспериментальных данных проводили с помощью непараметрических методов: вычислением медианы (М), интерквантильного интервала между $25^{м}$ и $75^{м}$ процентилями, включающим 50% значений признака в

выборке. Оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни и Вилкоксона.

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excell, программного пакета «STATISTICA – 6.0» [14, 15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты проведенных исследований параметры регенерации интактных планарий в различные сезоны года (лето и осень) несколько различаются (рис. 1). Летом в первый день наблюдения индекс регенерации превышал данные осенних экспериментов в 2,1 раза. В последующие сроки наблюдения это соотношение сохранялось: в различные дни летнего эксперимента индекс регенерации превышал данные осенних опытов в 1,4 – 2,0 раза ($p<0,05$). Летом к 11 дню эксперимента этот показатель достигал 0,118 усл. ед. и стабилизировался, а осенью в этот срок наблюдения индекс регенерации составлял лишь 75% летних значений и его стабилизации не наблюдалось.

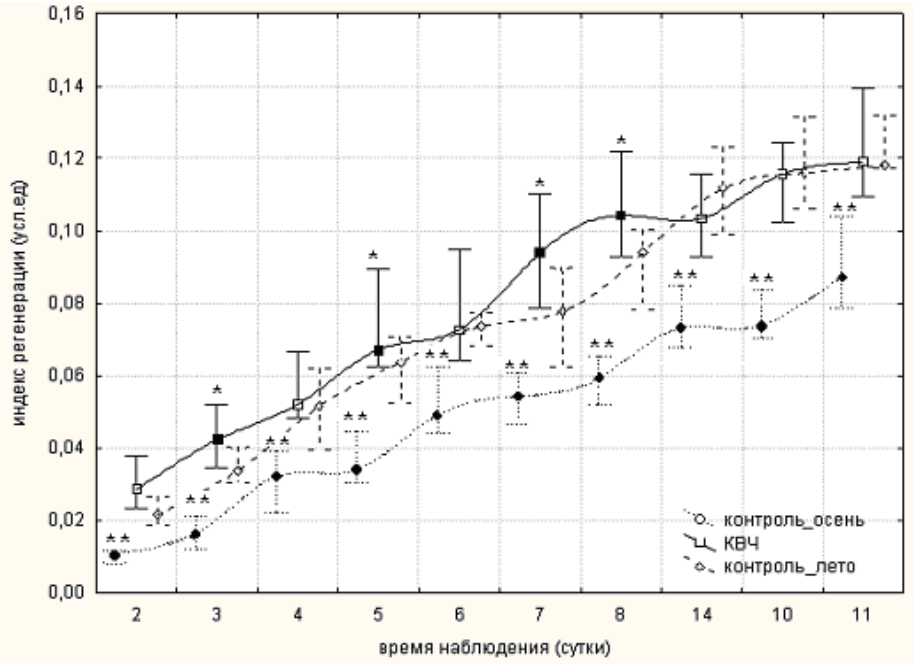


Рис. 1. Динамика индекса регенерации планарий в различных экспериментальных группах.

Примечание: * – $p < 0,05$ – при сравнении контрольной и экспериментальной групп в летнем эксперименте; ** – $p<0,05$ относительно значений летней и осенней серии экспериментов.

Скорость индекса регенерации планарий в летний период также выше, чем осенью в большинстве дней наблюдения. Только с пятых на шестые сутки она составляет 60%

осенних значений. Летом значения скорости индекса регенерации изменяются в пределах 0,002 – 0,018 усл. ед./сутки, осенью от 0,008 до 0,01 усл. ед./сутки. В динамике как индекса регенерации (рис. 1), так скорости его изменения (рис. 2) отчетливо проявляется ритмическая составляющая: односуточная остановка роста бластема сменялась двухсуточным возрастанием этого показателя в 1,5 – 2 раза.

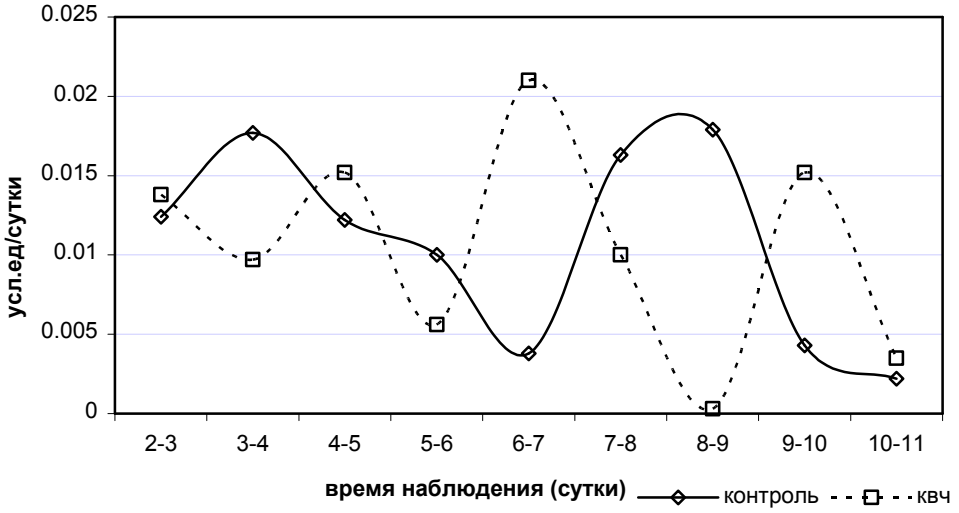


Рис. 2. Скорость индекса регенерации планарий в контрольной группе и у животных, подвергнувшихся воздействию ЭМИ КВЧ.

Таким образом, интенсивность регенераторных процессов у планарий в различные сезоны года неодинакова: она выше летом, чем осенью. Полученные данные согласуются с результатами наших предыдущих исследований [16], согласно которым уровень регенерации интактных планарий выше летом, чем зимой. Таким образом, в интенсивности регенераторных процессов планарий отчетливо прослеживается сезонная ритмика, которая имеет важное значение в структуре временной организации биологических систем [17, 18].

Регенерация планарий в условиях действия низкоинтенсивных ЭМИ КВЧ изменялась: на вторые сутки эксперимента индекс регенерации возрастал на 32% относительно данных контрольной группы. В дальнейшем наблюдалось снижение разницы между показателями контрольной и экспериментальной групп и на четвертые сутки ИР достигал данных контрольной группы. В последующие пятые и седьмые сутки эксперимента он превышал данные контрольной группы на 5%, 20% соответственно, с 9 суток он не отличался относительно контрольного уровня (рис. 1). Скорость индекса регенерации в этом эксперименте также менялась. Его значение в различные дни эксперимента колебались от 0,0003 до 0,02 усл.ед./сутки, т.е. в значительно больших пределах, чем в контрольной группе животных. При ярко выраженной ритмической составляющей в динамике этого показателя сроки максимальных его значений в контрольной группе соответствовали минимальным

значениям экспериментальной группы, т.е. основным изменением в динамике скорости индекса регенерации вследствие воздействия ЭМИ КВЧ была инверсия его ритма (рис. 2).

Таким образом, низкоинтенсивные ЭМИ КВЧ, создаваемое генератором Луч КВЧ – 0,71, стимулирует регенераторные процессы у планарий, а также модифицирует ритмику показателей, характеризующих этот процесс. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования В.В. Новикова и др. [9 – 11] которые описали стимулирующий эффект миллиметрового излучения частотой 36 ГГц плотностью потока мощности 100 мкВт /см^2 на регенерацию планарий при его воздействии до и после отсечения головы животных. Этот эффект при предшествующей перерезке 10 минутной обработке мм-волнами достигал 30%. При последующей за отсечением головы действием ЭМИ КВЧ отмечена стимуляция регенерации только на 5%.

Известно, что ЭМИ этого диапазона успешно используются в терапевтической практике благодаря своему противовоспалительному, аналгетическому, иммуностимулирующему и т.д. действиям [19, 21, 22]. Кроме того, ЭМИ КВЧ используются для лечения ран [4], язв желудка [23] и т.д. По-видимому, в основе этого действия ЭМИ КВЧ лежит его способность стимулировать регенераторные процессы, обнаруженная в нашем исследовании.

Важным результатом проведенных исследований является выявление изменений многодневной ритмики регенерационных процессов под влиянием ЭМИ КВЧ. Такое явление было описано ранее [24] при исследовании влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на многочисленные показатели функциональной активности нейтрофилов и лимфоцитов интактных и гипокинезированных крыс. Дальнейшие исследования позволяет выяснить механизмы изменений временной организации, индуцируемые ЭМИ КВЧ у беспозвоночных.

ВЫВОДЫ

1. Интенсивность регенерации интактных планарий зависит от сезона года. Летом параметры регенерации (индекс регенерации, его скорость) выше, чем осенью.
2. Электромагнитное излучение частотой 42,3 Ггц плотностью потока мощности 0,1мВт/ см^2 стимулирует регенерацию планарий.
3. Электромагнитное излучение крайневысокой частоты изменяет многодневную ритмику параметров регенерации планарий.

Список литературы

1. Владимирский Б.М. Влияние солнечной активности на биосферу – ноосферу / Б.М. Владимирский, Н.А. Темурьянц. – М.: МНЭПУ, 2000. – 374с.
2. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа / Пресман А.С. – М.: Наука, 1968. – 288 с.
3. Чуян Е.Н. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ / Е.Н. Чуян, Н.А. Темурьянц, О.Б. Московчук, Н.В. Чирский, Н.П. Верко, Е.Н. Туманянц, В.П. Пономарева. – Симферополь: ЧП «Эльиньо». - 2003. – 448 с.
4. Light-dependent and -independent behavioural effects of extremely low frequency (ELF) magnetic fields in a land snail are consistent with a parametric resonance mechanism (PRM) / F. S. Prato, M. Kavaliers, A. P. Cullen, A. W. Thomas // Bioelectromagnetics. – 1997. – Vol. 18 – P.284-291.

5. Prato F. S. Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgaesia in the land snail depending on field and light conditions / F. S. Prato, M. Kavaliers, A. W. Thomas // Bioelectromagnetics. – 2000. – Vol. 21 – P. 287-301.
6. Леднев В.В. Магнитный параметрический резонанс в биосистемах: экспериментальная проверка предсказаний теории с использованием регенерирующих планарий Dugesia tigrina в качестве тест – системы / В.В. Леднев, Л.К. Сребницкая, Е.Н. Ильясова, З.Е. Рождественская и др. // Биофизика. – 1996. – Т.41, вып. 4. – с. 815-825
7. Jenrow K.A. Weak Extremely Low Frevuency Magnetic Field – Induced Regeneration Anomalies in the Planarian Dugesia tigrina / K.A. Jenrow, C.H. Smith, A.R. Liboff // Bioelectromagnetics. – 1996. – V. 17. P. 467-474.
8. Jenrow K.A. Weak Extremely Low Frevuency Magnetic Fields and Regeneration in the Planarian Dugesia tigrina / K.A. Jenrow, C.H. Smith, A.R. Liboff // Bioelectromagnetics. – 1995. – V. 16. P. 106-112.
9. Novikov V.V. Effect of Weak Static and Low – Frequency Alternating Magnetic Fields on the Fission and Regeneration in the Planarian Dugesia tigrina / V.V. Novikov, I.M. Sheiman, E.E. Fesenko // Bioelectromagnetics. – 2008. – Vol. 29. – P. 387- 393
10. Новиков В.В. Влияние слабых и сверхслабых магнитных полей на интенсивность бесполого размножения планарий Dugesia tigrina / В.В. Новиков, И.М. Шейман, Е.Е. Фесенко // Биофизика. – 2002. – Т.47, вып. 1. – с. 125-129
11. Влияние слабых и сверхслабых комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей и миллиметровых волн низкой интенсивности на регенерацию планарий Dugesia tigrina / В.В. Новиков, И.М. Шейман, А.В. Клюбин, Е.Е. Фесенко // Биофизика. – 2007. – Т.52, вып. 2. – с. 372-375.
12. Вишневский В.Г. Установка для прижизненной морфометрии регенерации планарий / В.Г. Вишневский, М.М. Махонина, Н.А. Демцун, Н.А. Темурьянц // Ученые записки ТНУ. – 2007. – Т. 20 (59), №4. – С. 18 -21.
13. Тирас Х.П. Критерии и стадии регенерации в планариях / Х.П. Тирас, В.И. Хачко // Онтогенез. – 1990. – Т. 15. № 1. – С. 42 – 48.
14. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica./ О.Ю. Реброва – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
15. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич // Модмон, 2000. – 319 с.
16. Темурьянц Н.А. Особенности регенерации планарий Dugesia tigrina при электромагнитном экранировании в различные сезоны года / Н.А. Темурьянц, Н.А. Демцун, В.С. Мартынюк // Физика живого. – 2008. – Т. 16. № 2. – С. 85 – 91.
17. Голиков А.П. Сезонные ритмы в физиологии и патологии / А.П. Голиков – М.Медицина, 1973. – 156 с.
18. Ашофф Ю. Биологические ритмы / Ю. Ашофф – М.: Мир, 1984. – Т.1 – 412 с., Т. 2 – 260 с.
19. Rojavin M.A. Medical application of millimetre waves / M.A. Rojavin and M.C. Ziskin //J. Med 1998. – V. 91. – P. 57-66
20. Бецкий О.В. Применение низкоинтенсивных миллиметровых волн в биологии и медицине / О.В. Бецкий, Н.Н. Лебедева // Миллиметровые волны в медицине и биологии. – 2007. – № 1. – С.32-59
21. Korpan N. Clinical effects of continuous microwave for postoperative septic wound treatment a double – blind controlled trial / N. Korpan, T. Saradeth / Am. J. Surg 1995, V. 170. – P. 271-276
22. Gapeyev A.B. Anti- inflammatory effects of low-intensity extrematory higt-freguency electromagnetic radiation: freguency and power dependence / A.B. Gapeyev, E.N. Mikhailik, N.K.Chemeris // Bioelectromagnetics. – 2008. – Vol. 29. – P. 197-206
23. Передерий В. Принципы медикаментозного и немедикаментозного лечения язвенной болезни / В.Передерий, Н. Бичкова, и др. // Врачебное дело 1993; Т. 5, №3, с. 58-61
24. Chuyan E.N., Temuryants N.A., Brusil I.A. Modification of Infradian Rhythmicity of Neutrophil Functional Activity by Low-Intensity Extremele High Frequency Electromagnetic Radiation // Biophisics. – 2004. – Vol. 49, № 1. – P. S72-S78.

Демцун Н.О., Туманянц К.М., Темур'янц Н.А. **Вплив низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ на регенеруючих планарій *Dugesia tigrina*** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 33-39.

Досліджено вплив електромагнітного випромінювання частотою 42,3 ГГц, щільністю потоку потужності 0,1 мВт/см2, на регенерацію планарій. Виявлено, що ЕМВ НВЧ стимулює регенерацію планарій і змінює багатоденну ритміку її параметрів.

Ключові слова: ЕМВ НВЧ, *Dugesia tigrina*, регенерація

Demtsun N.A, Tumanyants K.N, Temuryants N.A. **Effects of low intensity UHF EMF on regeneration of planaria *Dugesia tigrina*** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 33-39.

We studied the effects of 42.3 GHz, 0.1mW/cm^2 electrmoganetic field on regeneration of planaria. We found that UHF EMF stimulates planaria regeneration and alters the multi-day rhythmicity of its parameters.

Keywords: UHF EMF, *Dugesia tigrin*a, regeneration.

Поступила в редакцию 18.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 40-57.

УДК 595.799:591.521

РЕКОНСТРУКЦИЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ ПЧЕЛ-МЕГАХИЛИД (HYMENOPTERA: *MEGACHILIDAE*) НА ОСНОВЕ ЭВОЛЮЦИОННОГО СЦЕНАРИЯ РАЗВИТИЯ ИХ ГНЕЗДОСТРОИТЕЛЬНЫХ ИНСТИНКТОВ

Иванов С.П.

На основе эволюционного сценария с использованием 12 меронов и 195 признаков строения гнезд, поведения пчел и их личинок проведена реконструкция филогенетических отношений пчел-мегахилид. Установлен характер филогенетических отношений отдельных таксонов в пределах триб *Megachilini* и *Osmiini*, показана неоднозначность положения Fideliinae по отношению к *Megachilidae*.

Ключевые слова: *Megachilidae*, признаки строения гнезд, филогения.

ВВЕДЕНИЕ

Эволюционная история пчел всегда привлекала внимание апидологов. К настоящему времени сформулировано несколько гипотез становления гнездостроительных инстинктов пчел, общим для которых является, пожалуй, лишь одно – происхождение пчел от роющих ос [1 – 7]. Наиболее аргументированной представляется версия эволюционного развития пчел, разработанная В.Г. Радченко и Ю.А. Песенко [8] и поддержанная в дальнейшем Ч. Миченером [7]. Однако многие детали начальных этапов эволюции пчел и пути развития их гнездостроительных инстинктов в пределах отдельных семейств остаются неясными. Результаты проведенных исследований, в частности, не позволяют однозначно оценить ни положение отдельных семейств пчел относительно друг друга, ни, тем более, филогенетические связи пчел в пределах отдельных триб и родов. Очевидно, что такое положение будет сохраняться и в дальнейшем, если не будет реализована возможность привлечения для филогенетического анализа более широкого круга признаков. В настоящее время большинство известных схем филогенетических отношений насекомых, и в частности пчел, построено с использованием главным образом морфологических признаков [7, 9 – 12]. Количество таких признаков приближается к двумстам и, видимо, близко к исчерпанию. Не случайно некоторые исследователи посчитали необходимым использовать в своих филогенетических реконструкциях в дополнение к морфологическим признакам отдельные признаки строения гнезд, хлебцев и коконов [13, 14]. Такие признаки в отличие от морфологических, по сути, являются этологическими, поскольку за каждым из них стоит поведение пчел или личинок.

Привлечение таких признаков для построения филогенетических схем вполне оправданно, прежде всего, в силу их наследственной обусловленности. Такие признаки вполне можно рассматриваться как этологические фены и соответственно использовать в качестве идентификаторов таксонов пчел разного ранга наравне с морфологическими признаками. Положительные результаты осуществления такого подхода уже получены при реконструкции филогении складчатокрылых ос [15] и, это дает основания надеяться, что его применение будет не менее успешным и для других групп перепончатокрылых со сложным гнездостроительным поведением.

Еще одним резервом расширения круга признаков, казалось бы, могли стать признаки, выявляемые на молекулярном уровне. Однако молекулярная филогения пчел, основанная на признаках строения нуклеиновых кислот [16 – 18] или белков [12], пока не оправдала больших ожиданий. Возможно, это связано с подавляющим преобладанием общих и минимальным числом видоспецифичных генов, что характерно не только для насекомых.

К сожалению, ограничены и возможности привлечения для разработки вопросов филогении пчел палеонтологических данных в силу эволюционной молодости пчел, их относительно невысокой плотности в природе и специфическим условиям обитания.

Таким образом, очевидно, что основным резервом существенного пополнения арсенала кладистических признаков, способных обеспечить дальнейший прогресс в области филогенетических исследований пчел, остается признаки, полученные в ходе изучения поведения имаго и личинок пчел, а также строения гнезд и их отдельных деталей.

Цель настоящих исследований – составление реестра этологических признаков пчел и реконструкция филогенетических отношений пчел-мегахилид на основе эволюционного сценария их развития.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ филогенетических отношений пчел-мегахилид с использованием этологических признаков проведен в рамках гипотетико-дедуктивной схемы аргументации [20]. В основу филогенетической реконструкции был положен эволюционный сценарий развития гнездостроительных инстинктов пчел-мегахилид [21]. В соответствии с этим сценарием определялась полярность признаков, выстраивалась семогенетическая и анагенетическая составляющая филогенеза. Филогенетическая реконструкция осуществлялась в следующей последовательности: выделение групп разного уровня общности признаков, определение полярности признаков, выделение синапоморфий, перевод признаковых деревьев в таксон-признаковые с последующим объединением их в общую кладограмму [20]. Параллельно с анализом признаков по приведенной схеме на каждом этапе ее реализации проводилось согласование паттерна и направления ветвления филетических линий с эволюционной моделью развития гнездостроительных инстинктов пчел-мегахилид.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Филогенетическому анализу на основе этологических признаков пчел-мегахилид предшествовал процесс детального изучения строения гнезд 33 видов из 20 родов и подродов, обитающих в Крыму, Украине и на прилегающих территориях, а также анализ информации из многих литературных источников о гнездовании пчел, принадлежащих к 100 родам и подродам пчел-мегахилид мировой фауны. В ходе этого изучения нами выявлено 195 признаков строения гнезд и поведения пчел при их строительстве и провиантировании (табл. 1). Двадцать пять признаков выявлены и охарактеризованы впервые, а большинству из известных ранее даны более точные формулировки.

Таблица 1.

Мероны и признаки строения гнезд, поведения самок при их строительстве и провиантировании, поведения личинок пчел в ходе питания и плетения кокона

	Форма, положение и состав хлебца
1)	1.0. Хлебец лепной
2)	1.1. Хлебец формовой, частично повторяет форму ячейки
3)	1.2. Хлебец формовой, полностью повторяет форму ячейки
4)	1.3. Хлебец расположен в дальнем конце ячейки и не касается ее стенок
5)	1.4. Хлебец в виде порций провизии, сложенных одна на другую
6)	1.5. Хлебец ложнолепной
7)	1.6. Хлебец «фиделийский»
8)	1.7. Хлебец «литургийский»
9)	1.8. Хлебец «металлинельский»
10)	1.9. Хлебец «неофиделийский» в виде многослойной обмазки стенок ячейки
11)	1.10. В составе хлебца преобладает пыльца
12)	1.11. В составе хлебца преобладает нектар
	Положение яйца
13)	2.1. Яйцо располагается в замкнутой камере внутри хлебца
14)	2.2. Яйцо располагается в гротообразной полости хлебца
15)	2.3. Яйцо помещается в небольшом углублении хлебца
16)	2.4. Яйцо воткнуто в хлебец вертикально
17)	2.5. Яйцо воткнуто в хлебец под наклоном
18)	2.6. Яйцо лежит на хлебце
19)	2.7. Яйцо не закреплено на хлебце (лежит свободно)
	Поведение личинки
20)	3.1. Личинка в ходе питания объедает хлебец со всех сторон
21)	3.2. Личинка в ходе питания объедает хлебец вокруг себя
22)	3.3. Личинка в коконе свернута в полукольцо
23)	3.4. Личинка в коконе лежит свободно
24)	3.5. Выделение экскрементов в период питания
25)	3.6. Выделение экскрементов после питания до начала строительства кокона
26)	3.7. Выделение экскрементов продолжается в ходе строительства кокона
27)	3.8. Экскременты используются для обмазки (обкладки) стенок ячейки
28)	3.9. Экскременты входят в состав кокона
29)	3.10. Экскременты не выделяются личинкой ни на одной стадии развития
30)	3.11. Экскременты в виде отдельных гранул
31)	3.12. Экскременты используются для строительства ложного кокона
	Строение кокона
32)	4.1. Кокон ребристый
33)	4.2. Кокон гладкий
34)	4.3. Кокон плотный

Продолжение таблицы 1.

35)	4.4. Кокон тонкий
36)	4.5. Кокон полностью повторяет форму ячейки
37)	4.6. Кокон частично повторяет форму ячейки
38)	4.7. Кокон имеет утолщение на одном конце
39)	4.8. Кокон имеет утолщение на двух противоположных концах
40)	4.9. Кокон не имеет утолщений
41)	4.10. Кокон веретенообразный
42)	4.11. Кокон яйцевидный
43)	4.12. Кокон элипсоидный
44)	4.13. Кокон с «пятачком»
45)	4.14. Кокон с «бугорком»
46)	4.15. Кокон с «соской»
47)	4.16. Кокон с «крышкой»
	Диапауза
48)	5.1. Диапауза происходит в фазе предкуколки
49)	5.2. Диапауза происходит в фазе куколки
50)	5.3. Диапауза происходит в фазе имаго
	Строение и параметры ячейки, способ ее изготовления, способ оценки количества провизии
51)	6.1. Ячейки коммунальные
52)	6.2. Ячейки индивидуальные
53)	6.3. Ячейки виртуальные
54)	6.4. Ячейки эквиобъемные
55)	6.5. Ячейки эквилинейные
56)	6.6. Ячейки неопределенные по длине
57)	6.7. Ячейки первично неполнокомнонентные
58)	6.8. Ячейки вторично неполнокомпонентные
59)	6.9. Ячейки полнокомпонентные
60)	6.10. Ячейки псевдополнокомпонентные
61)	6.11. Ячейки располагаются в готовой полости ей соразмерной
62)	6.12. Ячейки выгрызаются
63)	6.13. Ячейки выстраиваются с использованием разных материалов
64)	6.14. Ячейки гомоморфные
65)	6.15. Ячейки заимствованные
66)	6.16. Пробка ячейки в виде завала
67)	6.17. Пробка ячейки лепная или выстраивается
68)	6.18. Строительный материал скрепляется секреторным веществом
69)	6.19. Стенки ячейки скрепляются частицами переработанного субстрата
70)	6.20. Перегородки между ячейками обычной толщины
71)	6.21. Перегородки между ячейками предельно тонкие
72)	6.22. Полость ячейки цилиндрическая
73)	6.23. Полость ячейки эллипсоидная
74)	6.24. Количество провизии в ячейках оценивается по затратам труда или времени
75)	6.25. Количество провизии в ячейках оценивается по степени их заполненности
76)	6.26. Ячейки используются один раз
77)	6.27. Ячейки используются многократно
78)	6.28. Порог в виде горловины ячейки с ровными краями (гомолог горловины)
79)	6.29. Порог в виде возвышения с неровными краями (гомолог дна)
80)	6.30. Порог отсутствует
81)	6.31. Перегородки одинарные
82)	6.32. Перегородки двойные
83)	6.33. Перегородки дублируются
	Положение ячеек относительно субстрата, гнездового канала и друг-друга; особенности гнездового канала
84)	7.1. Ячейки располагаются на субстрате

Продолжение таблицы 1.

85)	7.2. Ячейки располагаются в субстрате
86)	7.3. Ячейки располагаются одиночно
87)	7.4. Ячейки располагаются группами, мозаично
88)	7.5. Ячейки располагаются группами, в одной плоскости
89)	7.6. Ячейки располагаются линейно, их продольные оси совпадают
90)	7.7. Ячейки располагаются линейно, их продольные оси могут не совпадать
91)	7.8. Ячейки располагаются одиночно в ответвлениях общего хода
92)	7.9. Ячейки располагаются в ответвлениях общего хода по две–три в ряд
93)	7.10. Ячейки перевернуты, располагаются горловиной вниз
94)	7.11. Ячейки располагаются в полостях разного диаметра без предпочтения
95)	7.12. Ячейки располагаются только в полостях определенного диаметра
96)	7.13. Ячейки располагаются в предельно узких полостях
97)	7.14. Ячейки располагаются только в широких полостях
98)	7.15. Ячейки располагаются в конических полостях раковин моллюсков
99)	7.16. В гнезде имеется «вестибюль»
100)	7.17. В гнезде нет «вестибюля»
101)	7.18. Ячейки в гнездовом канале образуют непрерывный ряд
102)	7.19. Ячейки в гнездовом канале прерываются свободным пространством
103)	7.20. Гнездовой канал выгрызается
104)	7.21. Гнездовой канал заимствуется
	Субстрат гнездования
105)	8.1. Субстрат гнездования – песок рыхлый
106)	8.2. Субстрат гнездования – песок плотный
107)	8.3. Субстрат гнездования – глина
108)	8.4. Субстрат гнездования – древесина
109)	8.5. Субстрат гнездования – земля
110)	8.6. Субстрат гнездования – сухой навоз
111)	8.7. Субстрат гнездования – между листьев
112)	8.8. Субстрат гнездования – в плотных куртинах злаков
113)	8.9. Субстрат гнездования – между камней
114)	8.10. Субстрат гнездования – под корой
115)	8.11. Субстрат гнездования – отверстия в древесине
116)	8.12. Субстрат гнездования – щели в древесине
117)	8.13. Субстрат гнездования – полости внутри стеблей растений
118)	8.14. Субстрат гнездования – стебли с мягкой сердцевиной
119)	8.15. Субстрат гнездования – галлы
120)	8.16. Субстрат гнездования – раковины моллюсков
121)	8.17. Субстрат гнездования – термитники
122)	8.18. Субстрат гнездования – любые полости
	Строительный материал и поведение пчел при строительстве гнезд
123)	9.1. Строительный материал приносится извне
124)	9.2. Строительный материал добывается при выгрызании гнездового хода
125)	9.3. Строительный материал перерабатывается внутри ячейки
126)	9.4. Строительный материал укладывается в ячейку без переработки
127)	9.5. Строительный материал нескольких видов
128)	9.6. Строительный материал одного вида
129)	9.7. Строительный материал добывается вырезанием
130)	9.8. Строительный материал добывается соскобом
131)	9.9. Строительный материал добывается выгрызанием
132)	9.10. Строительный материал представляет собой вырезки неправильной формы
133)	9.11. Строительный материал представляет собой вырезки правильной формы
134)	9.12. Строительный материал переносится к гнезду в жвалах
135)	9.13. Строительный материал переносится с помощью ног
136)	9.14. Строительный материал переносится с помощью ног и жвал
137)	9.15. Строительный материал – вырезки листьев одной формы

Продолжение таблицы 1.

138)	9.16. Строительный материал – вырезки листьев разной формы
139)	9.17. Строительный материал – земля
140)	9.18. Строительный материал – пережеванная растительная масса
141)	9.19. Строительный материал – древесные опилки
142)	9.20. Строительный материал – растительная вата
143)	9.21. Строительный материал – смола
144)	9.22. Строительный материал – камешки, мелкая галька
145)	9.23. Строительный материал – песок
146)	9.24. Строительный материал – лепестки цветков
147)	9.25. Строительный материал – листья
148)	9.27. Строительный материал – кора
149)	9.28. Строительный материал – пленка березовой коры или другие подобные части растений
150)	9.29. Строительный материал – всякий мусор
151)	9.30. Строительный материал сухой
152)	9.31. Строительный материал влажный
153)	9.32. Строительный материал сухой, но увлажняется самкой в ходе приготовления
	Строение и состав гнезда
154)	10.1. Гнездо имеет общую пробку
155)	10.2. Гнездо не имеет общей пробки
156)	10.3. Пробка гнезда аналогична пробки ячейки
157)	10.4. Пробка гнезда отличается от пробки ячейки
158)	10.5. Задняя пробка гнезда имеется
159)	10.6. Задняя пробка гнезда отсутствует
160)	10.7. Гнездо закрывается завалом
161)	10.8. Гнездо имеет общее покрытие
162)	10.9. Гнездо (ячейка) открывается и закрывается при каждом посещении
163)	10.10. Гнезда содержат ячейки с потомством одного пола
164)	10.11. Гнезда содержат ячейки с потомством обеих полов
165)	10.12. В гнезде наблюдается порядок в размещения полов
166)	10.13. В гнезде не наблюдается порядка в размещении полов
167)	10.14. Самцы располагаются в дальних (от входа) ячейках
168)	10.15. Самцы располагаются в ближних (от входа) ячейках
169)	10.16. Соотношение полов зависит от кормовой базы
170)	10.17. Соотношение полов не зависит от кормовой базы
171)	10.18. При смене пола потомства в ряду ячеек наблюдается перепад массы хлебца
172)	10.19. При смене пола потомства в ряду ячеек не наблюдается перепада массы хлебца
173)	10.20. Масса перегородок увеличивается в последовательном ряду ячеек гнезда
174)	10.21. Масса перегородок уменьшается в последовательном ряду ячеек гнезда
175)	10.22. Масса перегородок в последовательном ряду ячеек гнезда сначала уменьшается, а затем увеличивается
176)	10.23. Масса перегородок не меняется в последовательном ряду ячеек гнезда
177)	10. 24. Средняя масса самок больше средней массы самцов
178)	10. 25. Средняя масса самок меньше средней массы самцов
179)	10. 26. Дифференциации полов по массе не наблюдается
	Отрождение имаго
180)	11.1. Протерогиния
181)	11.2. Протерандрия
182)	11.3. Сроки отрождения коррелируют с массой особи
183)	11.4. Сроки отрождения коррелируют с полом
184)	11.5. При выплоде потомства наблюдается определенный порядок
185)	11.6. При выплоде потомства не наблюдается порядка
186)	11.7. Порядок выхода из гнезд молодых пчел определяет механизм реверсного отрождения
187)	11.8. Порядок выхода из гнезд молодых пчел определяет механизм опережающего развития
188)	11.9. Первый вылет из гнезда не сопровождается ориентационным облетом
189)	11.10. Первый вылет из гнезда сопровождается разворотом в сторону места вылета

Окончание таблицы 1.

190)	11.11. Ориентационный облет в виде нескольких круговых облетов места вылета
191)	11.12. Ориентационный облет «сканирующий»
192)	11.13. Поиск места для гнезда осуществляется в местах отрождения
	Трофические связи
193)	12.1. Монолектизм
194)	12.2. Олиголектизм
195)	12.3. Полилектизм

В соответствии с современной версией типологии [22, 23] выделенные признаки объединены в 12 меронов: форма и состав хлебца; положение яйца; поведение личинок в ходе питания и плетения кокона; строение и положение кокона; фаза в период диапаузы; строение и параметры ячейки, способ ее изготовления и способ оценки количества провизии; положение ячеек относительно субстрата, гнездового канала и друг друга, особенности строения гнездового канала; субстрат гнездования; строительный материал и поведение пчел при строительстве гнезд; строение и состав гнезда; отрождение имаго; трофические связи.

Результаты реконструкции филогенетических отношений пчел-мегахилид на основе анализа собственно этологических признаков и признаков строения гнезд представляют кладограммы на рисунках 1 – 3. Нумерация признаков на рисунках 2 и 3 соответствует нумерации в таблице 1. На интернодах кладограммы на рисунке 2 указаны признаки характерные для типовых родов. Прежде чем приступить к анализу полученных кладограмм, необходимо сделать несколько общих замечаний.

Как отмечалось выше, этологические признаки пчел в силу их наследственной обусловленности могут рассматриваться как фены и выступать в качестве идентификаторов таксонов пчел разного ранга наравне с морфологическими признаками. Отдельные структуры гнезд являются калькой поведения пчел, что позволяет использовать их как идентификаторы таксонов. В нашем случае лишь иногда установление однозначной связи элементов строения гнезд с определенными таксонами потребовало учета характера поведения пчел при их возведении. В частности, принадлежность хлебцев к группе *лепных* (их имеют большинство короткохоботных пчел) или *ложнолепных* (свойственны части пчел-мегахилид) может быть установлена только с учетом поведения пчел при их формировании. Использование для строительства ячейки только определенным образом вырезанных и доставленных в гнездо вырезок листьев отличает пчел *Megachile* s. str. от *Anthocopa*. Сочетание некоторых этологических признаков послужило основанием для заключений об их связи с определенным этапом или направлением развития гнездостроительных инстинктов пчел. Так, например, сочетание протерандрии, расположения самцов в последних ячейках гнезда и их меньшие размеры по сравнению с самками имеет место у большинства Megachilini и Osmiini. У значительной части Anthidiini наблюдается протерогиния, противоположное размещение полов в гнездах и меньшие размеры самок по сравнению с самцами. Такое распределение признаков, учитывая их функциональную связь, дает основания предположить, что формирование различий в сроках выхода пчел из гнезд произошло на относительно раннем этапе развития Megachilidae, но после разделения этого семейства на соответствующие трибы.

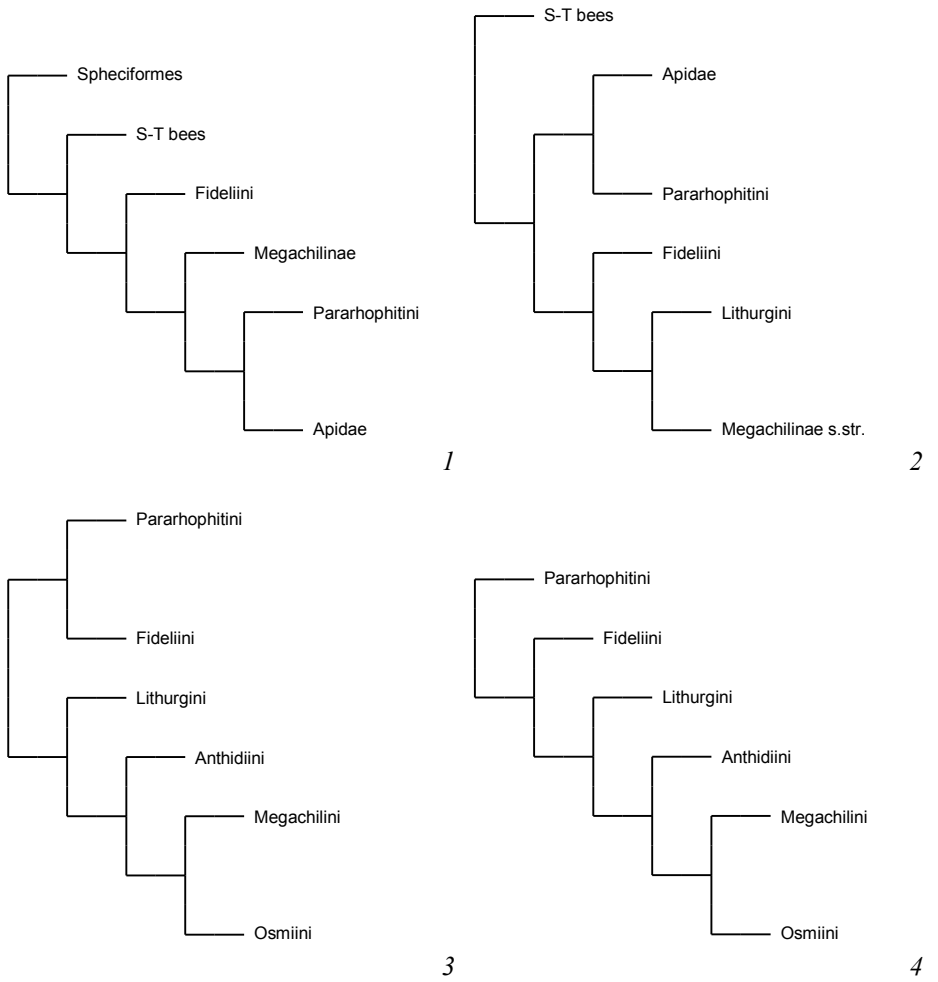


Рис. 1. Кладограммы филогенетических отношений пчел, построенные по поведенческим признакам.

Необходимо отметить, что в большинстве случаев степень проработанности отдельных эпизодов эволюционного сценария позволяла однозначно определить паттерн распределения признаков и последовательность кладистических событий в соответствующих фрагментах кладограмм. В отдельных случаях в качестве дополнительной аргументации привлекались морфологические признаки, уже интерпретированные в указанном смысле [7, 24 – 29 и др.]. Так, например однозначная трактовка морфологических признаков пчел-фиделиин как примитивных послужила основанием для придания статуса плезиоморфных целому ряду признаков строения их гнезд.

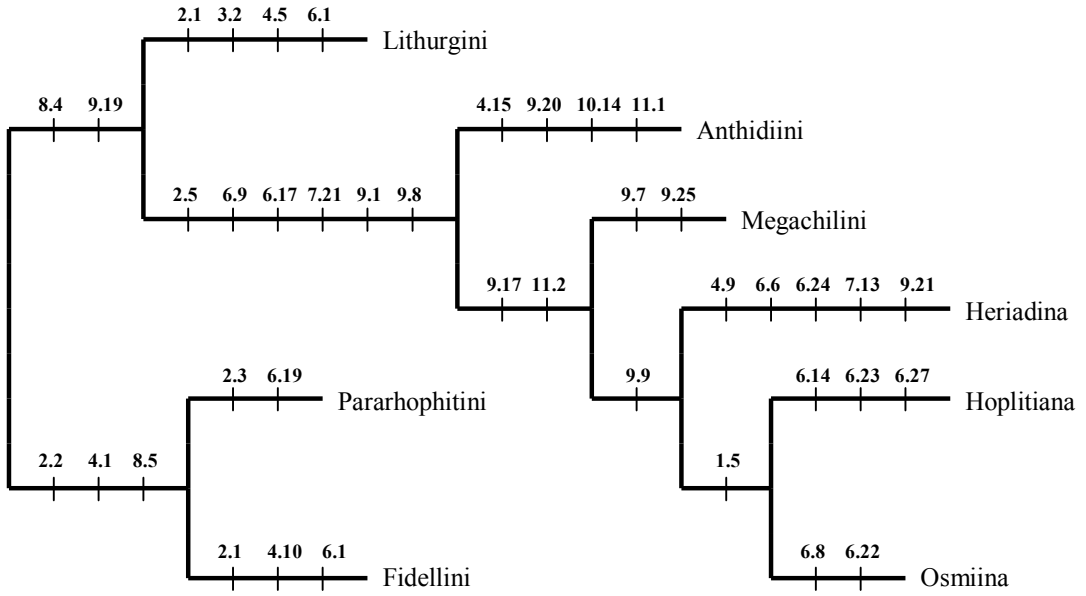


Рис. 2. Кладограмма филогенетических отношений между трибами и подтрибами семейства Megachilidae, построенная по поведенческим признакам.

Взвешивание признаков проводилось нами, исходя из анализа характера их изменчивости в ходе эволюции гнездостроительных инстинктов, четкости функциональной интерпретации и адаптивного значения. На основании этих и некоторых других критериев соответствующую оценку получили не только отдельные признаки, но и их сочетания, а также отдельные мероны. Значимость меронов отражена в таблице 1, в которой они представлены в порядке ее убывания. Наибольший вес имеют признаки, характеризующие форму хлебца и положения яйца. Большой вес этих меронов определяется, прежде всего, относительной консервативностью признаков его составляющих и свойством, которое можно определить как аккумуляционная емкость. Не случайно четыре типа хлебцев в составе первого мерона «именные», и все остальные признаки также имеют четкую привязку к тем или иным систематическим подразделениям пчел-мегахилид. Изменение признаков строения хлебца в ходе эволюции гнездования пчел происходило редко, и всегда было связано с существенными изменениями в биологии гнездования пчел – сменой трофических приоритетов, субстрата гнездования или строительного материала. Консервативность признаков строения хлебца также связана с его высокой энергетической емкостью, важностью его сохранности, как в период формирования, так и в достаточно продолжительный период питания личинки.

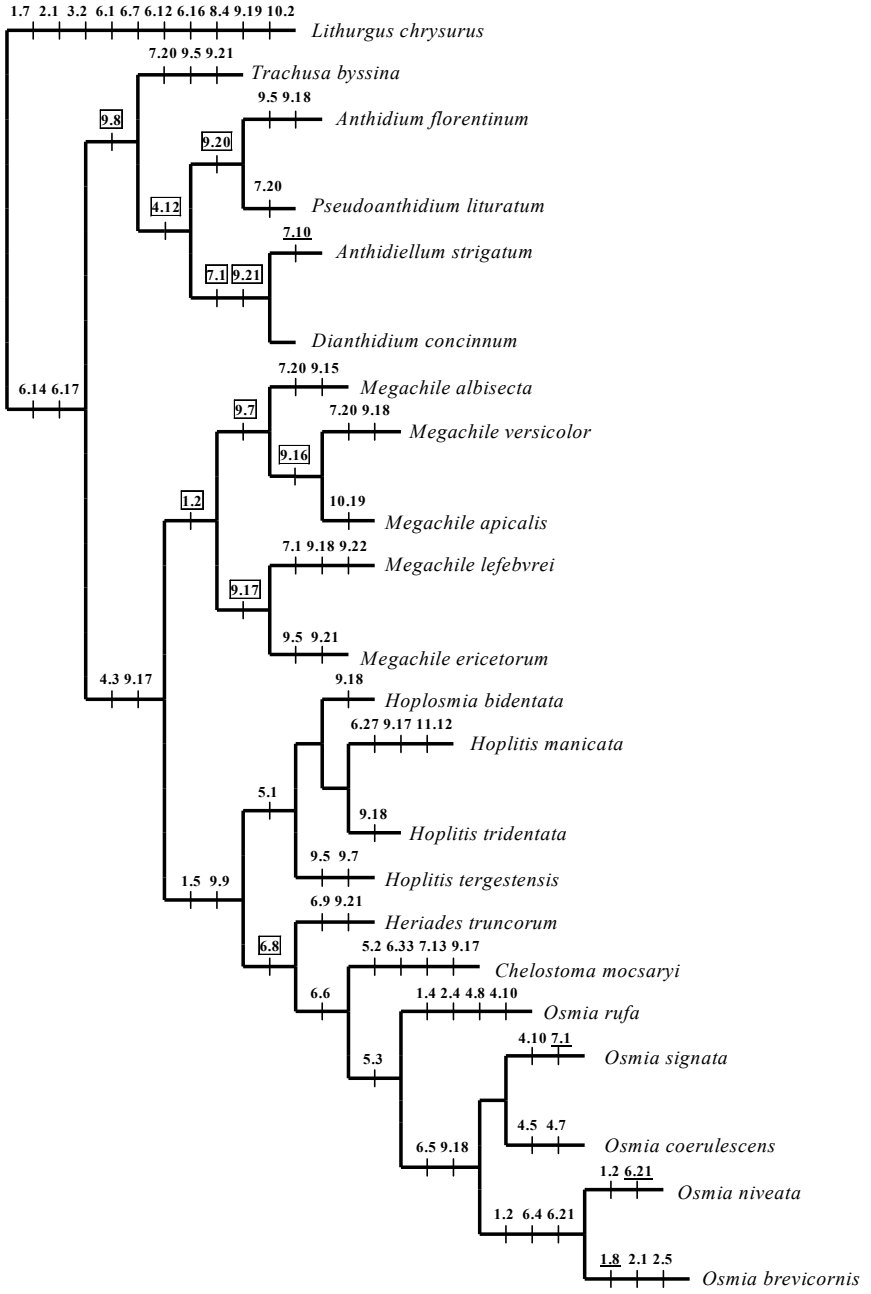


Рис. 3. Синапоморфограмма филогенетических отношений между отдельными видами подсемейства Megachilinae, построенная по поведенческим признакам.

Не меньшее значение имеет сохранность яйца. Особую опасность представляет период времени от откладки яйца, до запечатывания ячейки. Кроме того, откладка яйца требует от самки особенной аккуратности действий. Важность этого акта

отражается в поведении самок, которые всегда испытывают заметное возбуждение до тех пор, пока ячейка с только что отложенным яйцом не будет запечатана. Состояние пчелы в эти моменты сравнимы, пожалуй, только с возбуждением при встрече с половым партнером.

Форма хлебца и положение яйца не только тесно связаны между собой, но и аккумулируют многие признаки других меронов. Уникальный «литургийский» хлебец возник по двум причинам – как компенсация больших затрат времени на выгрызание ячеек в твердой древесине и невозможности *Lithurgus* перейти к изготовлению прочной лепной пробки ячейки. Появление ложнолепного хлебца открыло путь к строительству ячеек принципиально нового типа, а «металлинельского» – сопровождалось перестройкой не только модуса поведения пчел, но и личинок.

Кладограммы, отражающие начальные этапы развития Megachilidae (рис. 1), в целом соответствуют аналогичным деревьям, построенным по морфологическим признакам [7, 9, 11, 24 и др.]. Исключение составляет только кладограмма, представленная на рисунке 1, *1*, где Fideliini занимает сестринское положение по отношению ко всем длиннохоботным пчелам. Хотя на возможность такого варианта филогенетических связей указывает Ч. Миченер [7], основываясь на морфологических признаках пчел и их личинок. В нашем случае такое положение Fideliini основано на уникальности многих признаков строения ячейки и их общности с признаками строения ячейки первопчелы. Признаком, по которому произошло разделение филетических линий, поставивших Fideliini в соответствующее положение, является сохранение хлебца с гротообразной полостью для яйца у Fideliini и потеря этой полости у предка всех остальных длиннохоботных пчел-мегахилид. Следующая кладистическая группа (Pararhophitini + Apidae) образована на основании расхождения по признакам «стенки ячейки обрабатываются» – «стенки ячеек остаются без обработки». Обработка стенок ячейки у Pararhophitini носит своеобразный характер [30], но, учитывая персистентность этих пчел и плезиоморфное состояние многих других их признаков, можно допустить, что именно такая обработка была первым этапом развития обработки ячеек у пчел вообще.

Рисунки 2 и 3 представляют более полную версию результатов анализа филогенетических отношений пчел подсемейства Megachilinae. Признаки, обозначенные на кладограмме цифрами, выбраны, исходя из необходимости представить основные тенденции филогенеза пчел, показать апоморфии (большинство приведенных признаков), синапоморфии (взяты в рамку), плезиоморфии, некоторые из симплезиоморфий и аутапоморфий (подчеркнуты), а также параллелизмы.

Прежде всего, обращает на себя внимание большое количество параллелизмов (гомоплазий). Из приведенных на рисунке 67 признаков 7 возникли независимо в разных ветвях развития гнездостроительных инстинктов пчел, при этом один из них (признак 6.27) отмечен в 5 линиях развития. Как известно, большое количество гомоплазий снижает значимость соответствующих признаков и существенно затрудняет построение филогенетических деревьев. С другой стороны, наличие

параллелизмов является одним из проявлений направленного характера эволюции и может рассматриваться как аргумент в пользу монофилии той или иной группы [31]. В нашем случае каждый из параллелизмов нашел свое объяснение в ходе анализа условий гнездования соответствующих пчел. В частности вторичное использование ячеек (признак 6.27) во всех случаях сопровождается (сочетается) с особой прочностью их стенок и большими затратами времени на выгрызание (*Lithurgus*) или строительство (*Hoplitis*) ячеек. Гнезда *Heriades*, хотя и устраиваются в заимствованных каналах, так же, как правило, располагаются в ходах прогрызенных личинками жуков в твердой древесине, а использованная для строительства перегородок смола может использоваться многократно (наблюдения автора).

Также во всех линиях развития пчел-мегахилид независимо возникали свободные гнезда (признак 7.1): в пределах Anthidiini – как минимум 7 раз на родовом и подродовом уровнях (*Anthidiellum*, *Aspidosmia*, *Dianthidium*, *Epanthidium*, *Hypanthidium*, *Icteranthidium*, *Pachyanthidium*). Хотя возможно, что некоторые из приведенных родов имеют общего предка, уже строившего свободные ячейки. Среди Anthidiini хорошо прослеживается путь перехода от строительства ячеек в полостях к свободным ячейкам через гнездование в щелевидных и просторных полостях (*Hypanthidium*, *Icteranthidium* и др.). У Megachilini свободные ячейки возникли два раза – все виды *Chalicodoma* и единичные виды *Eutricharaea*. Как минимум четыре раза возникли свободные ячейки у Osmiini (*Hoplitis*, *Helicosmia*, *Melanosmia*, *Megaloheriades*). Меньшее количество видов, представляющих такие гнезда у Megachilini и Osmiini, имеет свое объяснение. В первом случае причина заключается в специфичности строительного материала у большинства представителей Megachilini, которые строят ячейки из вырезок листьев. Очевидно, что базовой группой в этой трибе являются халикодомоформные [по 7] виды, размещающие ячейки из земляной замазки в различных полостях (например, *Pseudomegachile*). Вырезание пластинок из листьев растений возникло позже. Промежуточную форму представляют *Chrysosarus*, строящие оригинальные ячейки, перегородки между которыми вылепливаются из грязи, а боковые стенки представлены вырезками из листьев. Причина небольшого числа видов, строящих свободные ячейки, у Osmiini состоит в характере строения гнезд у большинства видов этой трибы, имеющих неполнокомпонентные ячейки без боковых стенок.

В каждой из триб пчел-мегахилид отмечается развитие гнездостроительных инстинктов в направлении возврата к выгрызанию гнездовой полости в субстрате.

Употребление земли для строительства ячеек присутствует во всех трибах и подтрибах пчел-мегахилид кроме Anthidiini и Heriadina (признак 9.17). В трибе Megachilini земля является основным строительным материалом у всех халикодомоформных пчел. В подтрибе Osmiina земля часто используется гоплитиформными пчелами, строящими полнокомпонентные ячейки. Перегородки из земли строят пчелы наиболее генерализованного подрода *Osmia* s. str., а также все *Chelostoma*. Перешли на замазку из пережеванных листьев только относительно продвинутые *Helicosmia*, *Pyrosmia* и др. Это обстоятельство позволяет заключить, что строительный материал в виде земли, который добывался выгрызанием, стал использоваться ближайшим предком Megachilini как альтернатива пуху и смоле.

Эти материалы добывались соскабливанием ближайшим предком Anthidiini. Смола также используется многими пчелами из разных групп, но очевидно, что этот признак (признак 9.21) возник в каждой из них независимо и может рассматриваться как гомоплазия или же ложная синапоморфия.

Согласно представленному варианту филогенетических отношений пчел-мегахилин способность вырезать и использовать при строительстве ячейки кусочки листьев (признак 9.7), как отмечено выше, развилась у пчел-листорезов (*Megachile* s. str.) уже после разделения пчел на трибы Megachilini и Osmiini в момент отделения подрода *Chalicodoma*. В подроде *Anthocopa* (Osmiini) этот признак возник самостоятельно. Способность использовать растительную замазку (признак 9.18), наиболее распространенная у Osmiini, как уже отмечалось, сформировалась относительно поздно. Таким образом, известные случаи использования растительной замазки некоторыми Anthidiini и Megachilini следует рассматривать так же, как признак, возникший независимо.

Интерес представляет положение подтрибы Osmiina и трибы Osmiini в целом по отношению к другим трибам подсемейства Megachilinae. Позднее возникновение Osmiina определяется характером семогенеза признаков строения ячейки в соответствии с эволюционной моделью. Вторично неполнокомпонентные ячейки *Osmia* возникли из полнокомпонентных, появлению которых также предшествовала длительная эволюция [21]. Принципиальное отличие вторично неполнокомпонентных ячеек от первично неполнокомпонентных состоит в том, что строящие их пчелы должны обладать особой способностью – оценивать объем ячейки вне зависимости от ее формы. Именно приобретение этой способности ближайшим предком пчел подтрибы Osmiina позволило ему освоить новую адаптивную зону – заселение гнездовых полостей в широком диапазоне диаметров.

Иерархия отношений между трибами Anthidiini, Megachilini и Osmiini вытекает также из положения синапоморфий на кладограмме, достаточно надежных на наш взгляд. В частности, даже наличие самцов, превышающих размерами самок, у некоторых видов *Chelostoma* не смогло исключить протерандрию, обычно несовместимую с этим признаком.

Сравнение эффективности гнездостроительной деятельности *Osmia* и пчел других родов свидетельствуют, что эти пчелы, отказавшись от строительства перегородок, достигли существенной экономии времени. Поскольку возникновение менее эффективных структур из более эффективных представляется маловероятным, эти факты также можно считать аргументом в пользу правильности выявленной иерархии таксонов.

Последним в ряду аргументов (но не последним по значению), в пользу более позднего происхождения трибы Osmiini являются данные сравнительного анализа распространения пчел-мегахилид [7]. Osmiini полностью отсутствуют в Австралии и Южной Америке при значительном представительстве в Палеарктике с центром видового разнообразия в Средиземноморье. С учетом широкого распространения представителей других триб пчел-мегахилид по всем континентам, можно предположить, что Osmiini произошли относительно недавно на территории Средиземноморья, вероятно в позднем мелу, уже после отделения Австралии и

распада Гондваны, а их проникновение в Северную Америку произошло по одному из мостов между континентами возникших в Неогене.

Полученные нами данные позволяют определенным образом классифицировать разнообразие гнезд пчел-мегахилид, сгруппировав их (по аналогии с разделением пчел на тринадцать морфотипов [7]) в семь морфотипов: фиделиформные, антидиформные, мегахилеформные, гериадеформные, гоплитиформные, осмииформные и халикодомоформные гнезда. Часть наиболее характерных признаков шести морфотипов гнезд проставлены на соответствующих интернодах кладограммы, представленной на рисунке 2. Основные признаки халикодомоформных гнезд представлены на рисунке 3 – ветвь *Chelostoma mocsaryi*. К морфотипу фиделиаформных гнезд отнесены гнезда пчел триб Pararhophitini, Fideliini и Liturgini. Каждый из остальных морфотипов включает гнезда пчел, принадлежащих к таксонам соответствующего звучания наиболее высокого ранга. На рисунке 4 представлены семь видов пчел-мегахилид, гнезда которых представляют выделенные нами морфотипы гнезд. Обращает на себя внимание достаточно очевидное морфологическое своеобразие пчел, представляющих отдельные морфотипы гнезд.

В целом полученные нами данные свидетельствуют, что пчелы в эволюционном плане являются относительно молодой группой. На это указывает целый ряд особенностей кладограмм и, прежде всего, отмеченное выше обилие параллелизмов, симплезиоморфий и ложных синапоморфий. Эти данные находятся в соответствии с результатами исследований в области палеомелиттологии. В палеонтологической летописи пчелы-мегахилиды пока представлены только 31 ископаемым видом [32]. Наиболее древние из них (10 видов) описаны по экземплярам, зафиксированным в кусках янтаря эоценового возраста. Девять видов описаны из балтийского янтаря и один вид (*Ctenoplectrella zherikhini* Engel et Perkovsky) – из ровенского янтаря, добытого на территории Украины. К этим видам относятся представители четырех родов из трех вымерших триб: Protolithurgini, Glyptapini и Ctenoplectrellini. Вид – *Megachile glaesaria* Engel – единственный известный представитель вымершего подрода *Chalicodomopsis* – описан из доминиканского янтаря (ранний миоцен). Остальные 20 видов ископаемых мегахилид описаны по отпечаткам в отложениях позднеэоценового, олигоценового и миоценового возрастов, и, хотя формально они и относятся к рецентным родам, точная идентификация большинства из них затруднительна. Наиболее примитивной ископаемой мегахилидой является *Protolithurgus ditomeus* Engel. Пчелы наиболее генерализованного подсемейства Fideliinae отсутствуют в палеонтологической летописи, что, очевидно, связано со своеобразием экологической ниши пчел этого подсемейства – ксерофитные, полупустынные стации. Особый интерес представляют ископаемые вырезки листьев пчел-листорезов (конец палеоцена – начало эоцена), являющиеся дополнительным свидетельством раннего разделения базального ствола Megachilinae на несколько ветвей, в каждой из которых пчелы использовали разные строительные материалы.

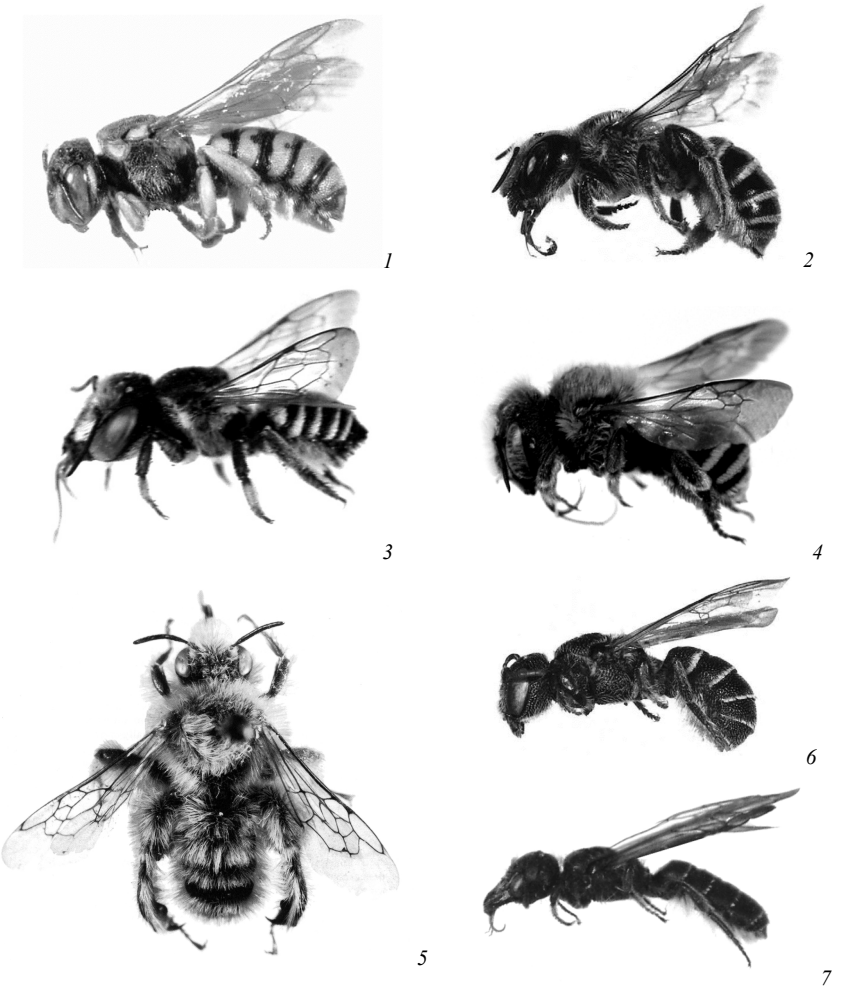


Рис. 4. Пчелы, гнезда которых представляют семь морфотипов гнезд пчел-мегахилид.

1 – Dianthidium ulkei (anthidiiform nest); *2 – Hoplitis biscutellae* (hoplitiform nest); *3 – Megachile apicalis* (megachiliform nest); *4 – Osmia signata* (osmiiform nest); *5 – Neofidelia profuga* (fideliiform nest); *6 – Heriades carinata* (heriadiform nest); *7 – Chelostoma florisomne* (chelostomiform nest). *1*; *2*; *6* – по [7]; *5* – по [29]; *3*; *4*; *7* – ориг.

ВЫВОД

Изучение тонких деталей строения гнезд, отдельных деталей строения ячеек, коконов, закономерностей размерных соотношений ячеек, особенностей поведения имаго пчел и личинок пчел-мегахилид позволило выявить большое количесство оригинальных признаков, по своему объему не уступающих совокупности морфологических признаков, которые традиционно используется в филогенетических построениях.

Филогенетическая реконструкция эволюционного пути пчел-мегахилид, построенная по признакам строения гнезд на основе эволюционного сценария, в

целом соответствует систематической дифференциации этого семейства и новейшим филогенетическим реконструкциям, построенным по морфологическим признакам. В тоже время использование этологических признаков позволило более определенно очертить филогенетические связи между отдельными трибами Megachilinae, что до сих пор не удавалось сделать на основе анализа морфологических признаков. С принятием предложенной филогенетической схемы развития гнездостроительных инстинктов пчел-мегахилин становится очевидным более позднее происхождение Osmiini по отношению к остальным трибам Megachilinae и возможность выделения новой подтрибы Hoplitiana. Кроме того, получено подтверждение отмеченной ранее неоднозначности положения Fideliinae по отношению к Megachilidae.

Характер распределения признаков по синапоморфограмме свидетельствует об эволюционной молодости пчел-мегахилид, что находится в соответствии с данными последних исследований в области палеомелиттологии.

В процессе эволюционного становления гнездостроительных инстинктов пчел-мегахилид нашло свое отражение большинство явлений, которые составляют суть морфогенеза: дивергентное и конвергентное развитие, преадаптации, анаболии, смена функций, преодоление лимитирующих факторов с выходом в новую адаптивную зону и так далее. Это свидетельствует об общности законов эволюционных преобразований морфологических и этологических признаков, отражением которых являются элементы строения гнезд, соотношения размерных параметров ячеек, строение хлебцев и коконов и перспективности использования признаков такого рода для реконструкции эволюционного пути насекомых со сложным гнездовым поведением.

Благодарности. Автор выражает благодарность А.В. Фатерыге за компьютерное оформление работы.

Список литературы

1. Гутбир А. О классификации и развитии гнезд ос и пчел / А. Гутбир // Тр. Русск. энтомол. об-ва. – 1916. – Т. 41, № 7. – С. 1–57.
2. Nielsen E.T. Quelgues procedes ameliores a employer a l'etude de nids des hyménoptères solitaires / E.T. Nielsen // Entomol. Medd. – 1931. – Bd. 17, H. 5. – P. 312–318.
3. Малышев С.И. Пути и условия возникновения инстинктов пчел (Hymenoptera, Apoidea) в процессе эволюции / С.И. Малышев // Тр. Всес. энтомол. об-ва. – 1951. – Т. 43. – С. 83–114.
4. Малышев С.И. Становление перепончатокрылых и фазы их эволюции / С.И. Малышев. – М.–Л.: Наука, 1966. – 326 с.
5. Eickwort G.C. Observations on the nesting behavior of *Megachile rubi* and *M. texana* with a discussion of the significance of soil nesting in the evolution of megachilid bees (Hymenoptera: Megachilidae) / G.C. Eickwort, R.W. Matthews, J.M. Carpenter // J. Kansas entomol. Soc. – 1981. – Vol. 54, N 3. – P. 557–570.
6. Engel M.S. *Megachile glaesaria*, the first megachilid bee fossil from amber (Hymenoptera:Megachilidae) // Amer. Mus. Novit. – 1999. – N 3276. – 13 p.
7. Michener C.D. The bees of the World / C.D. Michener. – Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2007. – 953 p.
8. Радченко В.Г. Биология пчел (Hymenoptera, Apoidea) / В.Г. Радченко, Ю.А. Песенко. – СПб., 1994. – 350 с.

9. Roig-Alsina A. Studies of the phylogeny and classification of the long-tongued bees (Hymenoptera: Apoidea) / A. Roig-Alsina, C.D. Michener // Univ. Kansas. Sci. Bull. – 1993. – Vol. 55, N 4/5. – P. 124–162.
10. Alexander B.A. Phylogenetic studies of the families of short-tongued bees (Hymenoptera: Apoidea) / B.A. Alexander, C.D. Michener // Univ. Kansas Sci. Bull. – 1995. – Vol. 55, N 11. – P. 377–424.
11. Engel M.S. A monograph of the Baltic amber bees and evolution of the Apoidea (Hymenoptera) / M.S. Engel // Bull. Amer. Mus. natur. Hist. – 2001. – Vol 259. – P. 1–192.
12. Engel M.S. Family-group names for bees (Hymenoptera: Apoidea) / M.S. Engel // Amer. Mus. Novit. – 2005. – N 3476. – 33 p.
13. Kitamura K. On the notes of leaf-cutting behavior in some Japanese megachilid bees (Hymenoptera, Megachilidae) / K. Kitamura, Y Maeta, K. Minagi // New Entomol. – 2000. – Vol. 49, N 3–4. – P. 29–32.
14. Bosch J. A phylogenetic analysis of nesting behavior in the genus *Osmia* (Hymenoptera: Megachilidae) / J.Bosch, Y. Maeta, R. Rust // Ann. entomol. Soc. Amer. – 2001. – Vol. 94, N 4. – P. 617–627.
15. Carpenter J.M. Phylogenetic relationships among yellowjackets and the evolution of social parasitism (Hymenoptera: Vespidae, Vespinae) / J.M. Carpenter, E.P. Perera // Amer. Mus. Novit.– 2006. – N 3507. – 19 p.
16. Cameron S.A. The application of nucleotide sequence data to phylogeny of the Hymenoptera: a review / S.A. Cameron, J.N. Derr, A.D. Austin et al. // J. Hym. Res. – 1992. – Vol. 1, N 1. – P. 63–79.
17. Collins A.M. Partial cytochrome b sequences for six Hymenoptera of the eastern United States / A.M. Collins, L.M. Gardner // J. Heredity. – 2001. – Vol. 92, N 6. – P. 519–521.
18. Kwon Y.J. Phylogenetic relationship of *Osmia* spp. in Korea based on mitochondrial COI gene sequnce (Hymenoptera: Megachilidae) / Y.J. Kwon, M.L. Lee, S.E. Suh // J. Asia-Pacific Entomol. – 2003. – Vol. 6, N 1. – P. 7–14.
19. Ascher J.S. Phylogenetic utility of the major opsin in bees (Hymenoptera: Apoidea): a reassessment / J.S. Ascher, B.N. Danfort, S. Ji // Mol. Phylogenetics Evol. – 2001. – Vol. 19, N 1. – P. 76–93.
20. Павлинов И.Я. Введение в современную филогенетику (кладогенетический аспект) / И.Я. Павлинов. – М: КМК, 2005.– 391 с.
21. Иванов С.П. Возникновение и эволюционное развитие гнездостроительных инстинктов пчел-мегахилид (Apoidea: Megachilidae) / С.П. Иванов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – Симферополь: ТНУ, 2000. – № 2. – С. 42–56.
22. Мейен С.В. Мерономия и таксономия // Вопросы методологии в геологических науках / С.В. Мейен. – К.: Наук. думка, 1977. – С. 25–33.
23. Любарский Г.Ю. Архетип, стиль и ранг в биологической систематике / Г.Ю. Любарский. – М.: КМК, 1996. – 436 с.
24. Michener C.D. Comparative external morphology, and a classification of the bees (Hymenoptera) / C.D. Michener // Bull. Amer. Mus. natur. Hist. – 1944. – Vol. 82, art. 6. – P. 151–326.
25. Попов В.В. Об эволюции пчелиных родов *Protosmia* Ducke и *Chelostomopsis* Ckll. (Hymenoptera, Megachilidae) / В.В. Попов // Зоол. журнал. – 1961. – Т. 15, вып. 3. – С. 359–371.
26. Michener C.D. Evolution of the nests of bees / C.D. Michener // Amer. Zool. – 1964. – Vol. 4, N 2. – P. 227–239.
27. Rozen J.G. Biology, immature stages, and phylogenetic relationships of Fideliine bees, with the description of a new species of *Neofidelia* (Hymenoptera, Apoidea) / J.G. Rozen // Amer. Mus. Novit. – 1970. – N 2427. – 25 p.
28. Rozen J.G. Life history and immature stages of the bee *Neofidelia* (Hymenoptera, Fideliidae) / J.G. Rozen // Amer. Mus. Novit. – 1973. – N 2519. – 14 p.
29. Engel M.S. Fideliine phylogeny and classification revisited (Hymenoptera: Megachilidae) / M.S. Engel // J. Kansas entomol. Soc. – 2004. – Vol. 77, N 4. – P. 821–836.
30. McGinley R.J., Rozen J.G. Nesting biology, immature stages, and phylogenetic placement of the Palaearctic bee *Pararhophites* (Hymenoptera: Apoidea) / R.J. McGinley, J.G. Rozen // Amer. Mus. Novit. – 1987. – N 2903. – 39 p.
31. Расницын А.П. Процесс эволюции и методология систематики / А.П. Расницын // Тр. Русск. энтомол. об-ва. – 2002. – Т. 73. – 108 с.
32. Engel M.S., Perkovsky E.E. An Eocene bee in Rovno amber, Ukraine (Hymenoptera, Megachilidae) / M.S. Engel // Amer. Mus. Novit. – 2006. – N 3506. – 12 p

Іванов С.П. **Реконструкція філогенетичних відносин бджіл-мегахілід (Hymenoptera: Megachilidae) на основі еволюційного сценарію розвитку їх гніздобудівельних інстинктів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 40-57.

На основі еволюційного сценарію з використанням 12 меронів і 195 ознак будови гнізд, поведінки бджіл і їхніх личинок проведена реконструкція філогенетичних відносин бджіл-мегахілід. Установлено характер філогенетичних відносин окремих таксонів у межах триб Megachilini і Osmiini, показана неоднозначність положення Fideliinae стосовно Megachilidae.

Ключові слова: Megachilidae, ознаки будови гнізд, філогенія.

Ivanov S.P. **Reconstruction of the phylogenetic relations of megachilid-bees (Hymenoptera: Megachilidae) on the basis of the evolutionary scenario of its nest-building instincts development //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P.40-57.

It was carried out a reconstruction of the phylogenetic relations of megachilid-bees on the basis of the evolutionary scenario with usage of 12 maerons and 195 characters of nests construction and behavior of bees and their larvae. It was ascertained the disposition of phylogenetic relations of separate taxa within tribes Megachilini and Osmiini and showed an ambiguity of the place of Fideliinae relative to Megachilidae.

Keywords: Megachilidae, nests construction characters, phylogeny.

Поступила в редакцию 3.06.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 58-66.

УДК: 612.821 612.8:616.8

ВЛИЯНИЕ ВИЗУАЛЬНЫХ ЭМОЦИОГЕННЫХ СТИМУЛОВ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫЗВАННЫХ ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ

Коваленко А.А., Черный С.В., Павленко В.Б.

Исследовали влияние эмоционально значимых зрительных стимулов на характер корковой вызванной активности человека. Обнаружено достоверное уменьшение латентности ранних компонентов P1 и N1 в ответ на эмоционально негативные стимулы по сравнению с положительными и нейтральными. Выявлены корреляционные связи уровня эмоциональной устойчивости с амплитудно-временными характеристиками поздних компонентов ВП.

Ключевые слова: зрительные вызванные потенциалы, амплитуда компонента, латентный период компонента, эмоциогенные стимулы, уровень эмоциональной стабильности

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время отмечается существенный рост числа исследований, посвящённых нейрофизиологическим основам эмоциональных реакций человека [1 – 4]. В то же время, несмотря на значительное количество работ в этой области, пока не сложилось убедительного и общепринятого представления об основных нейрофизиологических механизмах возникновения и развития эмоций человека.

Особую роль в исследовании мозговых механизмов высших психических функций играют методы оценки электрической активности мозга, в том числе регистрация вызванных потенциалов (ВП) [5 – 7]. По существующим представлениям, в любом ВП отражаются как сенсорные процессы приёма информации (ранние, коротколатентные компоненты ответа), так и процессы переработки, хранения информации и принятия решения о реализации того или иного действия (поздние длиннолатентные компоненты ответа) [8].

Многочисленные исследования свидетельствуют о существенном влиянии эмоций на характер корковой вызванной активности [1, 9 – 11]**.** Однако, несмотря на достаточно большой объем накопленного фактического материала, результаты различных работ неоднозначны, что, по-видимому, обусловлено разнообразием экспериментальных подходов к формированию эмоциональной реакции.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы было выявить изменения корковых вызванных потенциалов человека при воздействии эмоционально значимых зрительных стимулов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено с участием 25 испытуемых-правшей (9 мужчин и 16 женщин) в возрасте 18-25 лет. В качестве стимульного материала использовали зрительные сигналы Международной аффективной системы изображений (IAPS, Center for the Study of Emotion and Attention, CSEA-NIMH, 1999), позволяющие контролировать факторы знака эмоции и эмоциональной активации. Известно, что стимулы данной системы вызывают комплекс субъективных, вегетативных и нейрофизиологических эмоциональных реакций, варьирующих в зависимости от знака и активирующего содержания стимула [12 – 13]. Все стимулы были разделены на 3 категории в зависимости от нормативных значений по шкалам знака эмоции и уровню эмоциональной активации (по 30 стимулов на каждую категорию): 1) нейтральные; 2) положительные с высоким эмоциональным содержанием; 3) отрицательные с высоким эмоциональным содержанием[1].

Стимулы предъявляли в случайном порядке. Время предъявления стимула составляло 1000 мс, межстимульный период – от 3 до 4 с. Во время предъявления стимулов испытуемый располагался сидя на расстоянии 80 см перед экраном монитора. Для минимизации мышечных артефактов испытуемому давали инструкцию сидеть расслабленно и не совершать мышечных движений. С целью уменьшения движений глаз, а также для подавления мощности альфа-ритма, который может частично синхронизироваться с формой волны ВП, затрудняя его выделение, испытуемого просили фиксировать взгляд в центре монитора, где постоянно горел красный светодиод.

Для оценки личностных свойств испытуемых использовали 16-факторный личностный опросник Кеттелла [14], который позволяет выделить факторы, характеризующие устойчивые особенности личности и её поведения в социуме. В зависимости от величины значения фактора С (фактор эмоциональной стабильности) все испытуемые были разделены на две группы. Испытуемые, имеющие значения фактора С ниже среднего в данной выборке, были обозначены как эмоционально-лабильные (11 человек), испытуемые, имеющие значения фактора С выше среднего были обозначены как эмоционально-стабильные (14 человек).

Зрительные вызванные потенциалы (ВП) регистрировали монополярно в лобных (F3/4), центральных (C3/4), теменных (P3/4), затылочных (O1/2), передне- (F7/8), средне- (T3/4) и нижневисочных (T5/6) областях коры по схеме «10-20» с объединённым ушным электродом в качестве референтного. Переднелобные отведения (Fp1/Fp2) исключали из анализа в связи с регистрацией в них значительного количества артефактов. Запись электроэнцефалограммы проводили с помощью электроэнцефалографа «Нейрон-спектр 4» (Россия). Частота

[1] Использованные стимулы: нейтральные: 2102, 2190, 2200, 2514, 2880, 5390, 7000, 7002, 7004, 7006,7009, 7010, 7020, 7030, 7031, 7035, 7040, 7090, 7100, 7130, 7150, 7175, 7211, 7217, 7233, 7705; отрицательные: 1300, 2053, 2730, 2800, 2811, 3000, 3010, 3016, 3022, 3100, 3101, 3120, 3130, 3170, 3225, 3250, 3400, 3550, 6350, 9042, 9253, 9265, 9320, 9405, 9410, 9433, 9561, 9570, 9582, 9600; положительные 1440, 1441, 1460, 1463, 1722, 1920, 1999, 2040, 2070, 2311, 4599, 4611, 4626, 4641, 4658, 5621, 5623, 5629, 5660, 5831, 5833, 5890, 5910, 7230, 7325, 7508, 8030, 8180, 8190, 8490.

дискретизации составляла 1000 Гц, постоянная времени – 0,32 с, фильтр верхних частот – 35 Гц. Для регистрации и обработки данных использовали программу ERP (программист Арбатов В.В.).

Под визуальным контролем из записи отбирали безартефактные ВП, которые в дальнейшем программно сортировали и усредняли в зависимости от типа стимула. Полученные таким образом для каждого отдельного отведения ВП затем дополнительно усреднялись пространственно для всех электродов с целью достижения лучшего соотношения сигнал/ шум.

В индивидуальных усреднённых ВП измеряли латентность пика последовательных компонентов ВП (P1, N1, P2, N2 и P3) как время от начала стимула до момента достижения максимума волны, в этот же момент измеряли и амплитуду волны.

Статистический анализ данных проводили с применением критерия Вилкоксона и критерия ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении усреднённых ВП, зарегистрированных в ответ на эмоционально положительные и эмоционально отрицательные стимулы, обнаружены статистически достоверные различия величины латентного периода (ЛП) компонента P1. Латентность данного компонента при восприятии эмоционально отрицательных изображений оказалась достоверно короче, чем при восприятии эмоционально положительных сигналов (рис.1, А).

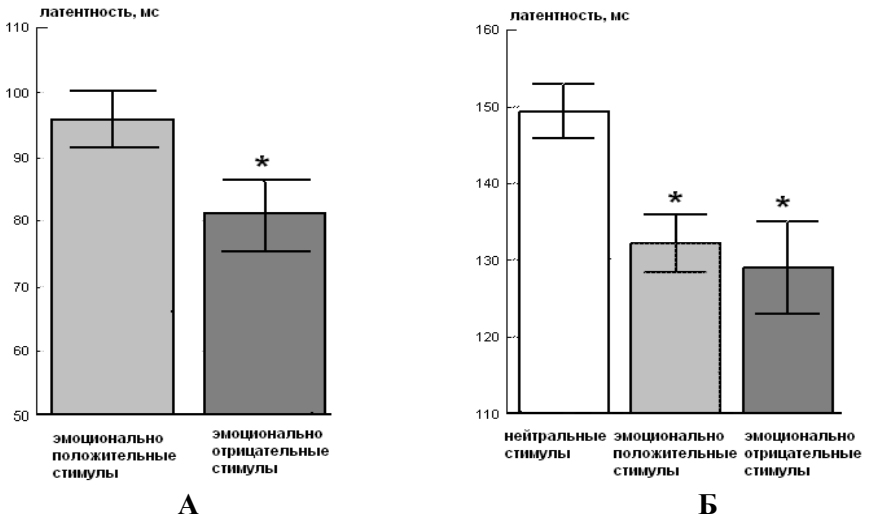


Рис. 1. Величины латентного периода (мс) ранних компонентов ВП в ответ на эмоциогенные стимулы. А – латентные периоды компонента P1 в ответ на стимулы различной валентности. Б – латентные периоды компонента N1 в ответ на стимулы положительной и отрицательной валентности, по сравнению с нейтральными.

Примечание: * - различия достоверны при $p<0,05$ по критерию Вилкоксона.

Анализ различий ВП на аффективные стимулы (положительные и отрицательные) по сравнению с нейтральными стимулами выявил достоверное уменьшение ЛП волны N1 в ответ на эмоциогенную стимуляцию, причём на негативные стимулы этот эффект был выражен сильнее (рис 1, Б).

Зарегистрированные нами различия латентности ранних (80-150 мс) компонентов ВП на эмоциогенные и нейтральные стимулы свидетельствуют о том, что выделение эмоционально-значимых сигналов из нейтрального контекста и различение положительного/отрицательного аффекта начинается уже на ранних этапах предъявления стимула.

Имеется большое количество данных об изменениях поздних компонентов ВП при восприятии эмоциогенных сигналов, сведения же о влиянии эмоциональной окраски стимулов на ранние этапы обработки информации достаточно скудны и касаются главным образом амплитудных характеристик компонентов ВП, тогда как латентные периоды компонентов, согласно данным литературы, изменяются незначительно [4]. Так, рядом исследователей показано, что амплитуда потенциала P1 зависит от валентности предъявляемого изображения и увеличивается в ответ на негативные стимулы в сравнении с позитивными и нейтральными [15 – 18]. Этот эффект наблюдался в затылочных [15 – 17], а также височных областях коры [17]. Отмечено увеличение амплитуды позднего P1 (160 мс) на негативные стимулы в лобных областях [19]. Сходные данные получены и в отношении потенциала N1, амплитуда которого была большей при восприятии эмоциогенных стимулов, независимо от знака, в затылочно-височных областях коры [20 – 21]. По мнению исследователей, увеличение амплитуды ранних компонентов ВП на негативные стимулы свидетельствует о том, что мозговая система обработки информации более чувствительна к негативным стимулам, они первыми привлекают избирательное внимание и сильнее активируют соответствующие зоны коры [3, 22]. Обнаруженное в нашем исследовании укорочение ЛП ранних компонентов N1 и P1 на негативные стимулы по сравнению с позитивными и нейтральными может говорить о более быстрой корковой обработке отрицательной эмоциональной информации и, таким образом, свидетельствовать в пользу данной гипотезы.

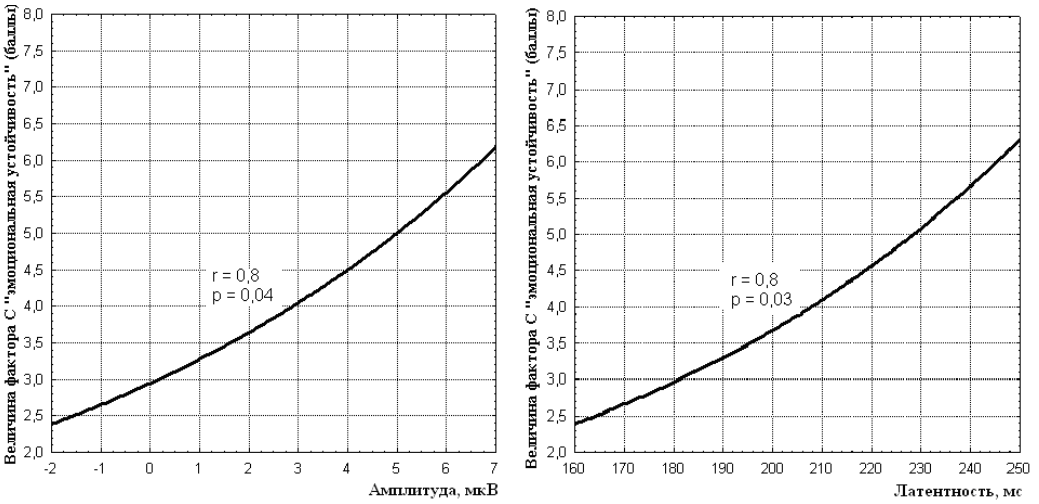
Обращает на себя внимание тот факт, что при анализе всей исследуемой выборки не было обнаружено влияния эмоциогенности сигнала на более поздние компоненты ВП. Тем не менее, имеющиеся литературные данные однозначно свидетельствуют о влиянии эмоционального содержания стимулов на амплитуду поздних компонентов ВП (250-800 мс). Так, имеются данные, указывающие на увеличение амплитуды волны P2 и уменьшение её латентного периода в ответ на негативные стимулы [23 – 24], а также отмечается увеличение амплитуды компонента P2 при восприятии как позитивных, так и негативных стимулов [15]. Многими авторами отмечается увеличение амплитуды потенциала P3 при восприятии эмоциогенных сигналов по сравнению с нейтральными [9, 11, 25 – 26].

Вместе с тем, неоднократно показана зависимость амплитудно-временных параметров компонентов вызванных потенциалов, преимущественно поздних, от индивидуально-психологических различий и психодинамических особенностей личности [27 – 28]. Можно предположить, что наличие личностно обусловленных

особенностей эмоционального реагирования выразилось в отсутствии достоверных различий в среднем по группе.

Чтобы выяснить, существует ли связь между личностным профилем эмоционального реагирования и характером вызванной корковой активности, мы разделили всех испытуемых на эмоционально-лабильных и эмоционально-стабильных в зависимости от величины значения фактора С, характеризующего эмоциональную стабильность личности, многофакторного опросника Кеттелла и провели корреляционный анализ (по Спирмену) связи значений данного фактора с амплитудно-временными характеристиками ВП на стимулы трёх категорий: нейтральные, эмоционально положительные и эмоционально отрицательные.

Корреляционный анализ выявил положительную связь (r = 0,8, p = 0,03) уровня эмоциональной стабильности (С) с величиной ЛП компонента Р2 на нейтральные стимулы у эмоционально-лабильных испытуемых, т.е. чем ниже у испытуемого уровень эмоциональной стабильности, тем быстрее возникает данный компонент (рис 2, А). Также у эмоционально-лабильных испытуемых величина фактора С была достоверно и положительно (r = 0,8, p = 0,04) связана с амплитудой компонента Р3 в ответ на негативные стимулы (рис 2, Б), т.е. чем ниже у испытуемого уровень эмоциональной стабильности, тем меньше у него амплитуда Р3.



А **Б**

Рис. 2. График регрессии показателей фактора С «эмоциональная устойчивость» и характеристик компонентов ВП в группе эмоционально-лабильных испытуемых.
А – связь показателей фактора С и амплитуды компонента Р3 в ответ на негативные стимулы. Б – связь показателей фактора С и латентности компонента Р2 в ответ на нейтральные стимулы. Линия тренда отражает экспоненциальную зависимость между исследуемыми характеристиками.

В группе эмоционально-стабильных испытуемых уровень эмоциональной устойчивости отрицательно (r = -0,7, p = 0,03) коррелировал с амплитудой компонента Р2 в ответ на эмоционально положительные стимулы, т.е. увеличение

позитивного отклонения компонента P2 характеризует меньший уровень эмоциональной устойчивости (рис. 3).

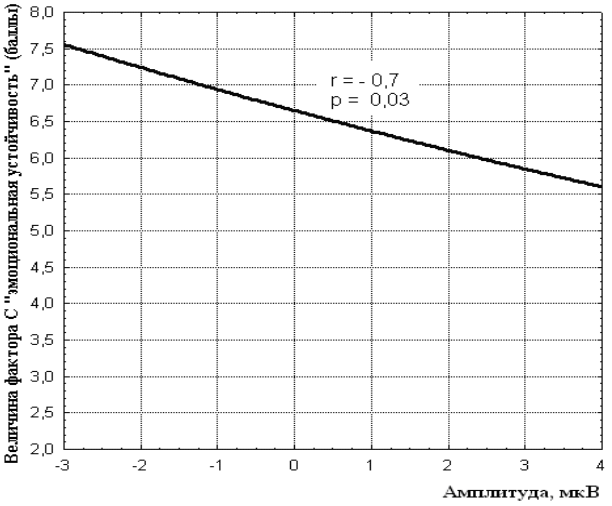


Рис. 3. График регрессии показателей фактора С «эмоциональная устойчивость» и амплитуды компонента P2 в ответ на эмоционально положительные стимулы в группе эмоционально-стабильных испытуемых.

По Кеттеллу, эмоционально-лабильные личности, имеющие низкие оценки по фактору С, характеризуются эмоциональной нестабильностью, неспособностью контролировать свои эмоциональные импульсы, более высоким уровнем тревожности. По-видимому, более короткий ЛП компонента P2, характеризующего уровень внимания [29] и являющегося индикатором степени различения и классификации стимулов [30], у эмоционально-лабильных испытуемых свидетельствует о более быстрой обработке ими новых стимулов, обладающих потенциальной угрозой, в том числе не имеющих эмоциональной значимости.

Обнаруженное нами у эмоционально-лабильных испытуемых снижение амплитуды P3 на негативные стимулы на первый взгляд не согласуется с литературными данными, свидетельствующими об увеличении амплитуды P3 под влиянием эмоциогенной стимуляции. В то же время есть сведения о том, что у тревожных испытуемых зарегистрирована достоверно более низкая амплитуда P3 по сравнению с нетревожными [31]. А поскольку эмоционально-лабильные личности отличаются бóльшим уровнем тревожности, то более низкая амплитуда компонента P3 у них может свидетельствовать о сниженной реактивности коры при восприятии эмоционально отрицательных стимулов.

В отличие от эмоционально-лабильных, эмоционально-устойчивые личности характеризуются высокой эмоциональной устойчивостью, самоконтролем, вплоть до эмоциональной ригидности. Поэтому наличие отрицательной связи амплитуды компонента P2 и показателей по фактору С в этой группе испытуемых кажется вполне закономерным и может свидетельствовать о низкой эмоциональной

значимости положительных эмоциогенных стимулов для эмоционально-устойчивых личностей.

ВЫВОДЫ

1. В результате анализа амплитудно-временных характеристик усреднённых вызванных потенциалов при предъявлении нейтральных и эмоциогенных зрительных стимулов установлено, что компоненты P1 и N1 в ответ на отрицательные стимулы возникают с меньшей латентностью по сравнению с положительными и нейтральными, что может свидетельствовать о более быстрой корковой обработке отрицательной эмоциональной информации.
2. У эмоционально-стабильных испытуемых уровень эмоциональной устойчивости отрицательно коррелировал с амплитудой компонента P2 в ответ на эмоционально положительные стимулы.
3. У эмоционально-лабильных испытуемых уровень эмоциональной устойчивости был положительно связан с латентностью компонента P2 на нейтральные стимулы и амплитудой компонента P3 на негативные стимулы.

Список литературы

1. Pastor M. Affective picture perception: emotion, context, and the late positive potential / M. Pastor , M. Bradley, A. Löw [et al.] // Brain Res. – 2008. – V. 1189. – P. 145-151.
2. Schupp H.T. Attention and emotion: an ERP analysis of facilitated emotional stimulus processing / H.T. Schupp, M. Junghofer, A.I. Weike [et al.] // Neuroreport. – 2003. – V. 14, № 8. – P. 1107-1110.
3. LeDoux J.E. Emotion circuits in the brain / J.E. LeDoux // Annual Review of Neuroscience. – 2000. – V. 23. – P. 155-184.
4. Olofsson J.K. Affective picture processing: an integrative review of ERP findings / J.K. Olofsson, S. Nordin, H. Sequeira [et al.] // Biological Psychology. – 2008. – V. 77, № 3. – P. 247-265
5. Гнездицкий В.В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике / В.В. Гнездицкий – М: МЕДпресс-информ, 2003. – 264 с.
6. Шагас Ч. Вызванные потенциалы в норме и патологии / Ч. Шагас [пер. с англ.]. – М.: Мир, 1975. – 314 с.
7. Polich J. Cognitive brain potentials / J. Polich // Current directions in Psychological Science. – 1993. – V. 2, №6. – P. 175-179.
8. Иваницкий А.М. Рефлексы головного мозга человека: от стимула к опознанию и от решения к действию / А.М. Иваницкий // ЖВНД.- 1990. – Т.40, №5. – С. 835.
9. Keil A. Large-scale neural correlates of affective picture processing / A. Keil, M. Bradley, O. Hauk [et al.] // Psychophysiology. – 2002. – V. 39, №5. – P. 641-649.
10. Codispoti M. Implicit and explicit categorization of natural scenes / M. Codispoti, V. Ferrari, A. De Cesarei [et al.] // Progress in Brain Research. – 2006. – V. 156. – P. 53-65.
11. Amrhein C. Modulation of event-related brain potentials during affective picture processing: a complement to startle reflex and skin conductance response? / C. Amrhein, A. Mühlberger, P. Pauli // International Journal of Psychophysiology. – 2004. – V. 54, №3. – P. 231-240.
12. Lang P.J. Looking at pictures: affective, facial, visceral, and behavioral reactions / P.J. Lang, M.K. Greenwald, M.M. Bradley [et al.] // Psychophysiology – 1993. – V. 30, №3. – P. 261-273.
13. Bradley M.M. Activation of the visual cortex in motivated attention / M.M. Bradley, D. Sabatinelli, P.J. Lang // Behavioral Neuroscience. – 2003. – V. 117, № 2. – P. 369–380.
14. Елисеев О.П. Практикум по психологии личности / Елисеев О.П. – С.-Пб.: Питер, 2000. – 560 с.
15. Carretie L. Automatic attention to emotional stimuli: neural correlates / L. Carretie, J.A. Hinojosa, M. Martin-Loeches [et al.] // Human Brain Mapping. – 2004. – V. 22, № 4. – P. 290-299.

16. Carretie L. Valence-related vigilance biases in anxiety studied through event-related potentials / L. Carretie, F. Mercado, J.A. Hinojosa [et al.] // Journal of Affective Disorders. – 2004. – V. 78, № 2. – P. 119-130.
17. Delplanque S. Modulation of cognitive processing by emotional valence studied through event-related potentials in humans / S. Delplanque, M.E. Lavoie, P. Hoi [et al.] // Neuroscience Letters. – 2004. – V. 356, № 1. – P. 1-4.
18. Smith N.K. May I have your attention, please: electrocortical responses to positive and negative stimuli / N.K. Smith, J.T. Cacioppo, J.T. Larsen [et al.] // Neuropsychologia. – 2003. – V. 41, № 2. – P. 171-183.
19. Carretie L. Neural response to sustained affective visual stimulation using an indirect task / L. Carretie, J.A. Hinojosa, J. Albert [et al.] // Experimental Brain Research. – 2006. – V. 174, № 4. – P. 630-637.
20. Keil A. Effects of emotional arousal in the cerebral hemispheres: a study of oscillatory brain activity and event-related potentials / A. Keil, M.M Muiler, T Gruber [et al.] // Clinical Neurophysiology. – 2001. – V. 112, № 11. – P. 2057-2068.
21. Schupp H.T. Attention and emotion: an ERP analysis of facilitated emotional stimulus processing / H.T. Schupp, M. Junghofer, A.I. Weike [et al.] // Neuroreport. – 2003. – V. 14, № 8. – P. 1107-1110.
22. Morris J.S. Conscious and unconscious emotional learning in the human amygdala / J.S. Morris, A. Ohman, R.J. Dolan // Nature. – 1998. – V. 393, № 6684. – P. 467-470.
23. Carretie L. Emotion and attention interaction studied through event-related potentials / L. Carretie, M. Martin-Loeches, J.A. Hinojosa [et al.] // Journal of Cognitive Neuroscience. – 2001. – V. 13, № 8. – P. 1109-1128.
24. Carretie L. Emotion, attention, and the 'negativity bias', studied through event-related potentials / L. Carretie, F. Mercado, M. Tapia [et al.] // International Journal of Psychophysiology. – 2001. – V. 41, № 1. – P. 75-85.
25. Delplanque S. Event-related P3a and P3b in response to unpredictable emotional stimuli / S. Delplanque, L. Silvert, P. Hot [et al.] // Biological Psychology. – 2005. – V. 68, № 2. – P. 107-120.
26. Polich J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b / J. Polich // Clinical Neurophysiology. – 2007. – V. 118, № 10. – P. 2128–2148.
27. De Pascalis V. Personality effects on attentional shifts to emotional charged cues: ERP, behavioral and HR data / V. De Pascalis, O. Speranza // Personality and Individual differences. – 2000. – №29. – P. 217-238.
28. Gurrera R.J. The P3 auditory event-related brain potential indexes major personality traits / R.J. Gurrera, B.F. O'Donnell, P.G. Nestor [et al.] // Biological Psychiatry. – 2001. – V. 49, № 11. – P. 922-929.
29. Novak G. Mismatch detection and the latency of temporal judgments / G. Novak, W. Ritter, I. Vaughan // Psychophysiology. – 1992. – V. 29, № 4. – P. 398-411.
30. Garcia-Larrea L. Revisiting the oddball paradigm. Non-target vs. neutral stimuli and the evaluation of ERP attentional effects / L. Garcia-Larrea, A. Lukaszewicz, F. Mauguiere // Neuropsychologia. – 1992. – V. 30, № 8. – P. 723-741.
31. Гордеев С.А. Особенности биоэлектрической активности мозга при высоком уровне тревожности человека / С.А. Гордеев // Физиология человека. – 2007. – Т. 33, № 4. – С.11-17

Коваленко Г.О.,Чорний С.В., Павленко В.Б. **Вплив візуальних емоціогенних стимулів на характеристики викликаних ЕЕГ-потенціалів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 58-66.

Вивчали вплив емоційно значимих візуальних стимулів на характер корковой викликаной активності людини. Виявили достовірне зменшення латентності ранніх компонентів P1 та N1 у відповідь на эмоційно негативні стимули порівняно з позитивними та нейтральними. Знайдено кореляційні зв’язки рівня емоційної стабільності з амплітудно-часовими характеристиками пізних компонентів ВП.

Ключові слова: зорові викликані потенцали, амплитуда компоненту, латентний період компоненту, емоціогенні стимули, рівень емоційної стабільності.

Kovalenko A.A., Chernyj S.V., Pavlenko V.B. **The effects of visual affective stimuli on characteristics of evoked EEG-potentials** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P.58-66.

Influence of affective visual stimuli on the nature of cortical evoked activity was investigated. Reliable decrease of earlier P1 and N1 components latencies under emotionally aversive stimuli as compared with emotionally positive and neutral stimuli was revealed. Correlation relations of emotional stability level with amplitude-temporal characteristics of later components were found.

Keywords: visual evoked potentials, component amplitude, component latency, affective stimuli, emotional stability level.

Поступила в редакцию 14.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 67-71.

УДК 612.821;159.9:615.1

ВЛИЯНИЕ СЕДАТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ЭМОЦИОНАЛЬНУЮ СФЕРУ ЧЕЛОВЕКА

Конарева И.Н.

Рассмотрена динамика показателей эмоциональной сферы человека под воздействием однократного приема седативных настоек. Значимые изменения вызвали настойки пиона и боярышника. Установлено дифференцированное влияние изучаемых настоек на рассмотренные показатели эмоциональной сферы человека.

Ключевые слова: валериана, пустырник, пион, боярышник, дифференциальные эмоции, реактивная тревожность.

ВВЕДЕНИЕ

Специфика современной жизни, включающая ухудшение экологической среды, усложнение социальных отношений, увеличение психоэмоциональных перегрузок, предъявляет повышенные требования к адаптационным возможностям человека. Срыв адаптации ведет к различным нарушениям в психоэмоциональной сфере и психосоматическим заболеваниям, в том числе и сердечно-сосудистым.

Для профилактики таких нарушений часто применяются мягко действующие природные успокаивающие вещества, такие как валериана, пустырник, пион, боярышник и др. Они понижают возбудимость центральной нервной системы, стимулируют процессы торможения в коре головного мозга, регулируют деятельность сердца, улучшают сон и общее психофизиологическое состояние, т.е. обладают генерализованным седативным действием. Спектр их воздействия достаточно широк, что обусловлено комплексом всех содержащихся в растениях биологически активных веществ [1]. Эффективность данных препаратов на объективные физиологические показатели организма человека неоднократно проверялась в клинических исследованиях. Однако вопрос о дифференцированном влиянии их на субъективные эмоциональные показатели подробно не рассматривался. Поэтому целью настоящей работы явился анализ динамики определенных показателей эмоциональной сферы человека до и после приема некоторых седативных препаратов растительного происхождения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняло участие 100 человек в возрасте 20-30 лет, образовавших 4 группы по 25 человек. Эксперимент проводился по следующей схеме:

1) Психологическое тестирование с помощью методик: «Самочувствие,

активность, настроение» (САН) А. Доскина; «Шкала реактивной тревожности» Ч.Д. Спилбергера и «Шкала дифференциальных эмоций» К. Изарда, позволяющая выявить выраженность 10 эмоций и коэффициент самочувствия [2].

2) Испытуемые первой группы однократно принимали стандартизированную (фармакопейную) спиртовую настойку валерианы (*Valeriana officinalis L.*), второй группы – настойку пустырника (*Leonurus cardiaca L.*), третьей группы – настойку пиона (*Paeoniae anomalae*), четвертой группы – настойку боярышника (*Crataegus sanguinea Pall*) в стандартной дозировке 30 капель на 100 см^3 воды.

3) Проведение повторного психологического тестирования через 10 минут.

Показатели психологического тестирования количественно обрабатывались с помощью программы STATISTICA. Достоверность различий между показателями первого и второго тестирования определяли по Т-критерию Вилкоксона. Статистически значимыми при статистических сравнениях считали коэффициенты корреляций при $p<0,05$; случаи достоверных изменений отмечены звездочкой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные изменений субъективных эмоциональных показателей до и после приема седативных настоек представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1.

Динамика показателей эмоциональной сферы между двумя тестированиями
($x \pm S\,x$)

показатели		до приема		после приема	
		$x \pm s\,x$	в %	$x \pm s\,x$	в %
самочувствие	*валериана*	3,92 ± 0,54	100	3,28 ± 0,46	83,7
	пустырник	5,03 ± 0,47	100	5,44 ± 0,49	108,2
	пион	4,10 ± 0,63	100	4,85 ± 0,58	118,3
	боярышник	4,13 ± 0,73	100	3,27 ± 0,56	79,2
активность	*валериана*	3,40 ± 0,52	100	2,72 ± 0,48	80,0
	пустырник	3,48 ± 0,55	100	3,11 ± 0,52	89,4
	пион	3,40 ± 0,55	100	4,90* ± 0,62	144,1
	боярышник	2,60 ± 0,46	100	2,40 ± 0,52	92,3
настроение	*валериана*	6,44 ± 0,62	100	5,88 ± 0,59	91,3
	пустырник	6,78 ± 0,53	100	6,85 ± 0,51	101,0
	пион	4,85 ± 0,64	100	6,60* ± 0,60	136,1
	боярышник	5,87 ± 0,94	100	6,63 ± 0,79	112,9
реактивная тревожность	*валериана*	16,00 ± 1,71	100	15,88 ± 1,87	99,3
	пустырник	21,81 ± 1,71	100	18,00* ± 1,18	82,5
	пион	25,30 ± 1,95	100	19,87* ± 1,78	78,5
	боярышник	20,47 ± 2,49	100	17,87 ± 2,24	87,3
коэффициент самочувствия	*валериана*	1,54 ± 0,05	100	1,47 ± 0,04	95,4
	пустырник	1,59 ± 0,06	100	1,69 ± 0,07	106,3
	пион	1,49 ± 0,04	100	1,60 ± 0,05	107,4
	боярышник	1,62 ± 0,05	100	1,40 ± 0,04	86,4

Прием настойки валерианы уменьшил все изучаемые показатели, особенно «самочувствие» (на 16 %) и «активность» (на 20 %) согласно методике «САН» А. Доскина, а также такие показатели дифференциальных эмоций как «удивление» (на 12 %) и «стыд» (на 13 %).

Под влиянием настойки пустырника заметно увеличились показатели «самочувствие» (на 8 %) и эмоции «радость» (на 10 %), а также уменьшились показатели «активность» – почти на 11%, «реактивная тревожность» – на 17 % (Z=2,41 при ρ=0,016), эмоций «горе» – на 12 % и «вина» – на 11 %.

Прием настойки пиона наиболее изменил изучаемые показатели. Так, увеличились показатели «самочувствие» на 18 %, «активность» на 44 % (Z=2,17 при ρ=0,030), «настроение» на 36 % (Z=2,60 при ρ=0,009), и уменьшились показатели «реактивная тревожность» на 21 % (Z=2,70 при ρ=0,007), эмоции «удивление» почти на 16 % (Z=2,55 при ρ=0,011), «горе» на 20 % (Z=2,34 при ρ=0,019), «отвращение» на 16 % (Z=2,37 при ρ=0,018), «презрение» на 12 %.

Под влиянием настойки боярышника увеличился показатель «настроение» на 13 % и снизились следующие показатели: «самочувствие» на 21 %, «реактивная тревожность» на 13 %, «коэффициент самочувствия» на 14 %, эмоции «интерес» на 18 % (Z=2,78 при ρ=0,005), «радость» на 12 %, «удивление» на 18 % (Z=2,20 при ρ=0,028).

Таким образом, только прием настойки пиона повышал все показатели согласно методике САН (самочувствие, активность, настроение). Это связано, по-видимому, с тем, что биологически активные вещества настойки пиона мало влияют на процессы торможения в головном мозгу.

Все настойки понижали выраженность реактивной тревожности, причем эффективнее всего действовали настойки пустырника и пиона. Известно, что пустырник применяется в качестве успокаивающего средства, заменяющего валериану и дающего лучший эффект, чем ее препараты. Считается, что седативный эффект настойки пустырника в 2-3 раза сильнее, чем настойки валерианы [3].

Эффект действия рассмотренных настоек объясняется их химическим составом и стимуляцией хеморецепторов. Как полагают, активные фармакологические компоненты, входящие в состав седативных препаратов (в частности, эфирные масла, органические кислоты, гликозиды, сапонины, флавоноиды и др.), воздействуют на механизмы важнейших регуляторных нейротрансмиттерных и нейромодуляторных систем мозга, прежде всего катехоламинергических.

Например, препараты валерианы снижают рефлекторную возбудимость в центральных отделах нервной системы и усиливают тормозные процессы в нейронах корковых и подкорковых структур головного мозга. Механизм действия валерианы на центральную нервную систему опосредован через ГАМКергические рецепторы [4].

Данные нейромедиаторные системы по-разному вовлекаются в генерацию и контроль эмоций. Так, дефицит норадреналина вызывает депрессию с эмоцией тоски, а серотонина – депрессию с эмоций тревоги. Увеличение уровня норадреналина вызывает поведенческое возбуждение, страх и тревогу, а серотонина – ингибирует проявления агрессии [5].

Таблица 2.

Динамика показателей дифференциальных эмоций ($x \pm S\,x$)

показатели		до приема		после приема	
		$x \pm s\,x$	в %	$x \pm s\,x$	в %
Интерес	*валериана*	7,24 ± 0,42	100	6,60 ± 0,42	91,2
	пустырник	8,07 ± 0,37	100	7,52 ± 0,39	93,2
	пион	7,62 ± 0,46	100	7,30 ± 0,48	95,8
	боярышник	7,13 ± 0,45	100	5,87* ± 0,55	82,3
Радость	*валериана*	6,84 ± 0,44	100	6,84 ± 0,39	100,0
	пустырник	7,15 ± 0,47	100	7,89 ± 0,42	110,3
	пион	6,70 ± 0,52	100	7,26 ± 0,50	108,4
	боярышник	7,60 ± 0,58	100	6,67 ± 0,52	87,8
Удивление	*валериана*	3,84 ± 0,27	100	3,36 ± 0,13	87,5
	пустырник	4,33 ± 0,29	100	4,37 ± 0,32	100,9
	пион	4,39 ± 0,25	100	3,70* ± 0,18	84,3
	боярышник	4,07 ± 0,40	100	3,33* ± 0,13	81,8
Горе	*валериана*	3,72 ± 0,33	100	3,72 ± 0,34	100,0
	пустырник	4,00 ± 0,32	100	3,52 ± 0,20	88,0
	пион	4,13 ± 0,40	100	3,30* ± 0,16	79,9
	боярышник	3,47 ± 0,24	100	3,40 ± 0,19	98,0
Гнев	*валериана*	3,04 ± 0,04	100	3,04 ± 0,04	100,0
	пустырник	3,33 ± 0,20	100	3,19 ± 0,11	95,8
	пион	3,39 ± 0,15	100	3,26 ± 0,18	96,2
	боярышник	3,13 ± 0,13	100	3,07 ± 0,07	98,1
Отвращение	*валериана*	3,12 ± 0,07	100	3,00 ± 0,00	96,2
	пустырник	3,37 ± 0,11	100	3,07* ± 0,07	91,1
	пион	3,57 ± 0,19	100	3,09* ± 0,06	86,6
	боярышник	3,07 ± 0,07	100	3,27 ± 0,27	106,5
Презрение	*валериана*	3,04 ± 0,04	100	3,00 ± 0,00	98,7
	пустырник	3,52 ± 0,14	100	3,22 ± 0,12	91,5
	пион	3,70 ± 0,17	100	3,26 ± 0,11	88,1
	боярышник	3,00 ± 0,00	100	3,27 ± 0,15	109
Страх	*валериана*	3,16 ± 0,12	100	3,00 ± 0,00	94,9
	пустырник	3,19 ± 0,08	100	3,11 ± 0,06	97,5
	пион	3,13 ± 0,09	100	3,22 ± 0,09	102,9
	боярышник	3,00 ± 0,00	100	3,07 ± 0,07	102,3
Стыд	*валериана*	3,72 ± 0,33	100	3,24 ± 0,20	87,1
	пустырник	4,04 ± 0,25	100	3,78* ± 0,27	93,6
	пион	3,78 ± 0,20	100	3,52 ± 0,18	93,1
	боярышник	3,27 ± 0,18	100	3,27 ± 0,15	100,0
Вина	*валериана*	3,20 ± 0,10	100	3,12 ± 0,07	97,5
	пустырник	4,07 ± 0,29	100	3,63 ± 0,20	89,2
	пион	4,22 ± 0,41	100	3,96 ± 0,32	93,8
	боярышник	3,33 ± 0,21	100	3,32 ± 0,14	99,7

Биологически активные вещества настоек оказывают физиологический и психологический эффекты посредством нервно-рефлекторного, гуморального и ассоциативного механизмов [6]. В коре головного мозга вкусовые и обонятельные ощущения вызывают определенные индивидуальные ассоциации, связанные с привычными представлениями человека.

Таким образом, полученные результаты, с одной стороны, можно объяснить действием физиологических механизмов, а с другой – субъективным психологическим состоянием испытуемых.

ВЫВОДЫ

1. Установлено дифференцированное влияние седативных препаратов растительного происхождения на показатели эмоциональной сферы человека.
2. Большинство этих изменений отражают снижение психоэмоционального напряжения.

Список литературы

1. Соколов С. Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей / Соколов С. Я. – М.: Медицинское информационное агентство, 2000. – 976 с.
2. Ильин Е. П. Эмоции и чувства / Ильин Е. П. – СПб.: Питер, 2001. – 752 с.
3. Зупанец И. А., Бездетко Н. В. Фармацевтическая опека: симптоматическое лечение тревожных состояний [Електронний ресурс] / И. А. Зупанец, Н. В. Бездетко // Провизор. – 2002. – № 24. Режим доступу до журн. : http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N24/art_22.htm
4. Ушкалова А. В., Илларионова Т. С. Эффективность и безопасность антидепрессивных и седативных средств растительного происхождения / А. В. Ушкалова, Т. С. Илларионова // Фарматека. – 2007. – № 20 (154). – С. 10–14.
5. Thompson R.F. The Brain: A Neuroscience Primer. – New York: Worth Publ., 2000.
6. Воробьева О. В., Акарачкова Е. С. Применение комбинированных растительных препаратов при тревожных расстройствах / О. В. Воробьева, Е. С. Акарачкова // Фарматека. – 2007. – № 7 (142). – С. 47–50.

Конарева І. М. **Вплив седативних препаратів рослинного походження на емоційну сферу людини** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2 – С.67-71.

Розглянуто динаміку показників емоційної сфери людини під впливом однократного прийому седативних настойок. Значущі зміни викликали настойки півонії і глоду. Встановлено диференційований вплив настойок, що вивчаються, на розглянуті показники емоційної сфери людини**.**

***Ключові слова**:* валеріана, пустирник, півонія, глід, диференціальні емоції, реактивна тривожність.

Konareva I.N. **Influence of sedative vegetable preparations on emotional sphere of the person //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2.. – P. 67-71.

Dynamics of parameters of emotional sphere of the person under influence of unitary reception of sedative tinctures is considered. Significant changes have caused tinctures of a peony and an aglet. The differentiated influence of investigated tinctures on the considered parameters of emotional sphere of the person is established**.**

Keywords: valeriana, leonurus, a peony, an aglet, emotions, uneasiness.

Поступила в редакцию 05.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 72-77.

УДК 582.594.2:281

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖЕНСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ *ORCHIS PALLENS*

Лысякова Н.Ю., Клименко Е.Н.

Установлены цитоэмбриологические особенности формирования и развития женского гаметофита *Orchis pallens* (L) одной из наиболее редких корнеклубневых орхидей Крыма. Определен биспорический способ развития зародышевого мешка *Polygonum*-типа битегмального семязачатка.

Ключевые слова: орхидеи, эмбриология, женский гаметофит.

ВВЕДЕНИЕ

Высокая полиморфность и видовое богатство, в сочетании с приуроченностью ко многим экотопам, делают семейство орхидных одним из наиболее интенсивно изучаемых семейств флоры Украины. С одной стороны это обусловлено широким спектром приспособлений и особенностями стратегии размножения, призванными обеспечить надёжность размножения в условиях конкуренции, антропогенного пресса и низкой численности природных популяций [1, 2]. В то же время изучение репродуктивной биологии орхидных позволит более эффективно разрабатывать меры, направленные на сохранение уникальных видов орхидных и растительных сообществ с их участием. Также эта информация позволит дополнить наши представления, как по систематике самого семейства, так и в аспекте эволюционной биологии.

Наряду со специфическими особенностями биологии у представителей семейства орхидных в ходе эволюции сложилась характерная для них система воспроизведения и размножения [3, 4]. Одной из отличительных особенностей семейства орхидных является образование огромного числа семян [5]. Поскольку потенциальная и реальная семенная продуктивность существенно отличаются, и в то же время существует целый ряд указаний на взаимосвязь показателей репродуктивной биологии со строением генеративной сферы [6], актуальной является задача изучения строения гинецея и этапов развития семязачатков. В связи с этим целью нашей работы было изучение цитоэмбриологических особенностей генеративной сферы представителя группы корнеклубневых орхидей *Orchis pallens* (L), а также составление временной периодизации развития семязачатков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследований послужили орхидеи вида *Orchis pallens* (L) в разных возрастных состояниях предгенеративного, генеративного и постгенеративного периодов онтогенеза.

Исследования проводились на постоянных препаратах, изготовленных по общепринятой цитоэмбриологической методике. Бутоны, цветки и завязи орхидей после сбора фиксировались в фиксаторе Карнуа. Материал промывали и обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации, пропитывали промежуточной жидкостью и парафином. Для резки на микротоме изготавливали парафиновые блоки методом «закапывания». Полученные срезы наклеивали на предметные стёкла, депарафинировали, окрашивали гематоксилином по Гейденгайну и фиксировали глицерином или канадским бальзамом [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно проведённым исследованиям стенка завязи гинецея *Orchis pallens* (L) состоит из 6 слоёв паренхимных клеток, наружной и внутренней эпидерм. Клетки наружной эпидермы крупные, покрыты кутикулой. Клетки внутренней эпидермы мелкие. В комплекс наружной и внутренней эпидермы входят устьица (рис. 1).

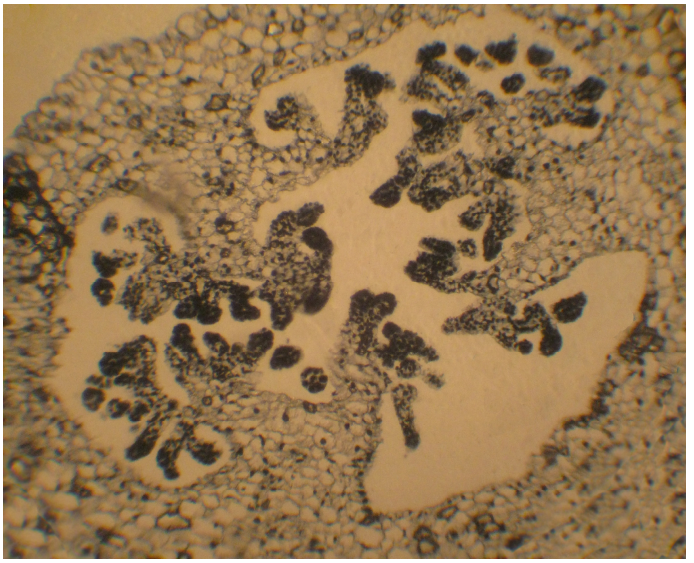


Рис. 1. Строение завязи *Orchis pallens* (L).(ув.15х40) окраска гематоксилином по Гейденгайну [7].

Завязь у всех представителей рода *Orchis* нижняя, синкарпная, состоит из 3 сросшихся плодолистиков. Многочисленные семязачатки развиваются на 3 париетальных плацентах. Каждая плацента дихотомически разделена на многочисленные гребни, в апикальной части которых дифференцируются примордии семязачатков. Наибольшее формирующее значение имеют периклинальные деления субэпидермального слоя плаценты, за счет которых образуется основная часть семязачатка. За счет периклинальных делений клеток нижележащих слоев плаценты образуются ткани, обеспечивающие контакт семязачатка с плацентой. Таким образом, в результате периклинальных делений

клеток субэпидермального и нижележащих слоев плаценты происходит «сдвиг» слоев примордия семязачатка по отношению к исходным слоям плаценты. Наружные производные, возникающие при делении субэпидермальных клеток плаценты, образуют археспорий, инициали латеральной области нуцеллуса и наружной области халазы и фуникулюса, а внутренние – вместе с производными третьего и нижележащих слоев плаценты формируют продольные ряды клеток. Примордии семязачатка *Orchis pallens* (L) состоят из 3 слоев: эпидермы, субэпидермального слоя и осевого ряда клеток.

Согласно концепции цито-гистологической зональности апекса побега [2, 4, 6], в сформированном примордии семязачатка можно выделить следующие зоны: периферическую (эпидермальный слой), апикальную (зона дифференцирующихся в субэпидермальном слое археспориальных клеток), латеральную (клетки субэпидермального слоя ниже уровня археспориальных клеток), базальную (продольные ряды клеток под субэпидермисом) и переходную (она дифференцируется в центробежном направлении и проходит через базальную и латеральную зоны до периферической). Из периферической зоны образуются эпидермис нуцеллуса, халазы и фуникулуса, интегументы. На базе апикальной зоны формируется мегаспороцит. Латеральная зона дает начало латеральной области нуцеллуса и наружной области халазы и фуникулкса, а базальная зона – базальной (осевой) области нуцеллуса и прокамбиальным тяжам клеток в халазе и фуникулусе. Переходная зона образует собственно гипостазу семязачатка.

Нуцеллус развивается из апикальной части примордия семязачатка. Он прямой, цилиндрический. Представлен эпидермой и субэпидермальным слоем. Снаружи эпидермис нуцеллуса покрыт слоем кутикулы. Клетки нуцеллуса овальные, вакуолизированные с ядром округлой формы. Ядро занимает центральное положение на ранних стадиях развития семязачатка, однако к стадии зрелого зародышевого мешка смещается в пристенное положение.

Нуцеллус условно подразделяют на три зоны: микропилярную (апикальную) зону, расположенную над мегаспороцитом или зародышевым мешком; латеральную (среднюю) зону, окружающую с боков мегаспороцит или зародышевый мешок; халазальную (базальную) зону, находящуюся ниже уровня мегаспороцита и зародышевого мешка. У исследованного вида все зоны развиты в равной степени.

Нуцеллус крассионуцеллятный, тонкостенный, слаборазвитый по классификации Т.Б. Батыгиной [3, 4]. Характеризуется редукцией ткани стенки до двух клеточных слоев – эпидермиса и субэпидермального слоя. Париетальной ткани нет.

У *Orchis pallens* субэпидермальный слой нуцеллуса дегенерирует на ранних этапах развития семязачатков до мегаспорогенеза. Однако деградации эпидермального слоя не наблюдается вплоть до стадии зрелого зародышевого мешка.

Семязачаток битегмальный. Интегументы однослойные.

Халаза в семязачатке слаборазвита и представлена небольшой группой клеток. Фуникулус состоит из трех слоев. Проводящий пучок в нем не дифференцируется. Его функцию, вероятно, выполняет центральный слой клеток. Этот слой фуникулуса входит в халазу и контактирует с клетками гипостазы. Гипостаза, дифференцируется как пограничная ткань между нуцеллусом и внутренним

интегументом, халазой и фуникулусом .Она располагается в формирующемся семязачатке в виде диска клеток под зародышевым мешком.

Археспорий исследованных видов орхидей одноклеточный [3, 4]. А рхеспориальная клетка без дифференцирующего деления преобразуется в мегаспороцит

В ходе составления временной периодизации развития развития семязачатков, анализировали развитие женской генеративной сферы от момента распускания цветка до стадии зрелых зародышевых мешков.

1 день (в момент распускания цветка). Примордии семязачатков находятся на стадии археспориальной клетки. Примордии состоят из 3 слоев: эпидермы, субэпидермального слоя и осевого ряда клеток. Археспориальная клетка, окруженная только эпидермисом, непосредственно становится материнской клеткой мегаспор (рис.2).

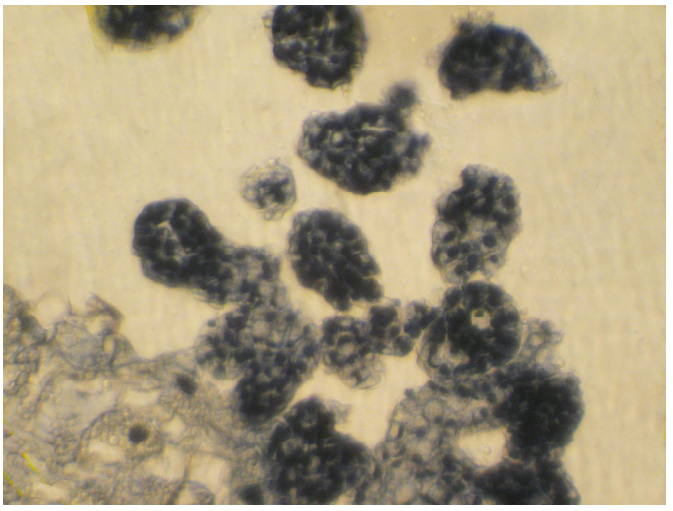


Рис. 2. Строение примордиев семязачатков на стадии археспориальной клетки *Orchis pallens* (L).(ув.15х40) окраска гематоксилином по Гейденгайну [7].

5 дней. Семязачаток перешел в период мегаспорогенеза (мегаспороцит приступил к редукционному делению). В одной и той же завязи наблюдается асинхронность делений: можно наблюдать диады и тетрады мегаспор. Субэпидермальный слой уже дегенерировал. Сохранился лишь эпидермальный слой клеток. Ядро клеток нуцеллуса занимает центральное положение.Хорошо различима гипостаза, располагающаяся в виде диска под мегаспорами.Наблюдается заложение инициалей интегументов (рис. 3).

14 дней. Развитие зародышевого мешка. Наблюдается начало деструкции нуцеллуса. Продолжают формироваться интегументы. Внутренний интегумент образует микропиле.

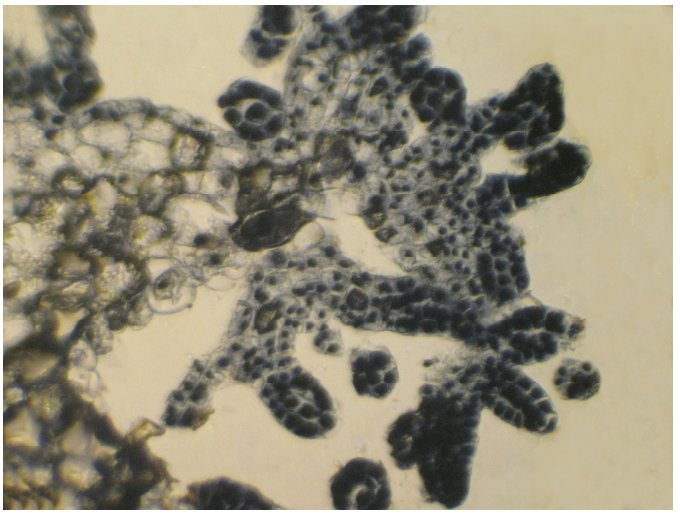


Рис. 3. Семязачаток в период мегаспорогенеза *Orchis pallens* (L).(ув.15х40) окраска гематоксилином по Гейденгайну [7].

19 дней. Завершение формирования семязачатков. Наблюдается полная редукция нуцеллуса. Заканчивается развитие интегументов. Наружный интегумент полностью окружает внутренний. Формируется биполярный, восьмиядерный, семиклеточный зародышевый мешок *Polygonum*-типа (рис. 4).

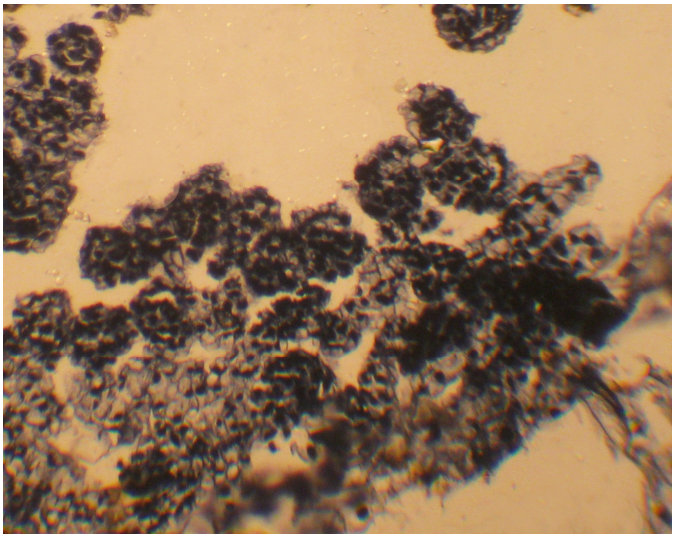


Рис. 4. Сформировавшиеся семязачатки *Orchis pallens* (L) (ув.15х40) окраска гематоксилином по Гейденгайну [7].

Структура зародышевого мешка *Polygonum*-типа *Orchis pallens* (L), биспорический способ его формирования, крассионуцеллятный тип битегмального

семязачатка свидетельствуют о высоком филогенетическом статусе репродуктивных структур женской генеративной сферы орхидных в целом и представителей рода *Orchis* в частности. Количество и степень развития формирующихся семязачатков *Orchis pallens* (L) свидетельствует о высокой потенциальной продуктивности этого вида.Низкая реальная семенная продуктивность этого вида обусловлена вероятно особенностями развития мужской генеративной сферы и антэкологии.

ВЫВОДЫ

1. Женский гаметофит *Orchis pallens* (L) представлен зародышевым мешком *Polygonum*-типа.
2. Цитоэмбриологический анализ особенностей женской генеративной сферы *Orchis pallens* (L) не выявил аномалий в развитии репродуктивных структур.
3. По временной периодизации развития женской генеративной сферы в роде *Orchis* стадии спорофиллогенеза и макроспорогенеза завершаются за 19 дней от дифференциации клеток первичного археспория.

Список литературы

1. Собко В.Г. Орхідеі України / Собко В.Г. -. Київ: Наукова думка, 1980. – 183 с.
2. Терехин Э.С. Семя и семенное размножение/Терехин Э.С.- Санкт- Петербург: Мир, 1996. - 337с.
3. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Система воспроизведения у орхидных // Тез. докл. I Всесоюз. совещ. “Охрана и культивирование орхидей”. Таллин, 1980. С. 107 – 111.
4. Батыгина Т.Б Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции / Батыгина Т.Б. .– Санкт-Петербург: Мир и семья, 1994. – 708 с
5. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / Паушева З.П. – М.: Колос, 1970. – 255 с.
6. Перебора Е.А. Семенная продуктивность орхидных (Orchidaceae) в условиях Северо-Западного Кавказа / Е.А. Перебора // Экологический вестник Северного Кавказа. 2005. №2. С.120-127.
7. Поддубная-Арнольди В.А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений/ Поддубная-Арнольди В.А.–М.:Наука,1976. – 508 с.

Лисякова Н.Ю., Кліменко Е.М. **Цітоембріологічні особливості жіночої генеративної сфери *Orchis pallens* (L).** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С.72-77.

Встановлені цітоембріологічні особливості формування і розвитку жіночого гаметофіта *Orchis pallens* (L) одній з найбільш рідких корнебульбових орхідей Криму. Визначен біспорічний засіб розвитку зародкового міхура *Polygonum*-тіпу бітегмального сімязачатку.

Ключові слова: орхідеї, ембріологія, жіночий гаметофіт.

Lysyakova N. Yu ., Klimenko E. N. **The cytoembriologic features of females generative sphere of *Orchis pallens* (L) //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P.72-77.

The cytoembriologic features of forming and development of female gametophyte of one of the most rare rhizocarpous orchid of Crimea *Orchis pallens* (L) are revealed. The bispore’s way of development of embryonic sack of *Polygonum*-type of bitegmal's ovule is determined.

Keywords: orchids, embryology, female gametophyte.

Поступила в редакцию 18.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 78-85.

УДК 582.594.2:281

ДИНАМИКА СИМБИОТИЧЕСКИХ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ У КОРНЕВИЩНЫХ ВИДОВ ОРХИДЕЙ

Лысякова Н.Ю., Симагина Н.О.

У четырех представителей подсемейства *Neottioideae,*относящихся к группе корневищных геофитов, выявлены особенности локализации эндомикотрофного компонента, динамика симбиотических и аллелопатических отношений в различные стадии онтогенеза, влияние эдафических и климатических факторов на степень микотрофности. Установлена отрицательная коррелятивная зависимость между степенью микотрофности и морфометрическими параметрами, а также потнециальной и реальной семенной продуктивностью корневищных орхидей Крыма.
Ключевые слова: орхидеи, микотрофность, аллелопатия.

ВВЕДЕНИЕ

Уникальное семейство *Orchidaceae* Juss в Крыму представлено 17 родами и 45 видами, занесенными в Красную книгу Украины. По строению подземных запасающих органов выделяют три группы орхидей: корневищные, корнеклубневые геофиты, характерные для Крыма, и вторично-наземные гемикриптофиты [1]. В литературе проанализированы данные популяционной экологии [1 – 5], антэкологии [6], потенциальной и реальной семенной продуктивности [7, 8] крымских видов орхидей. Динамика симбиотических и аллелопатических взаимоотношений у корневищных видов орхидей не изучены.

Значение микоризы для орхидей, формы взаимодействия симбионтов, физиологические особенности грибов и их потребности в питании достаточно подробно описаны в многочисленных работах. Однако, о типе взаимоотношения орхидеи и гриба до сих пор идут дискуссии. По мнению Бургефа, Ромлера [9] в микоризных симбиозах гриб паразитирует на высшем растении. Напротив, другие исследователи (Франк, Люк) считают, что высшее растение в этом случае паразитирует на своем микоризном грибе. Наконец, согласно взглядам Шеде, Горбуновой и других [9 – 11], компоненты микоризного симбиоза находятся друг с другом в отношениях взаимного паразитизма.

Так как между орхидеей и грибом происходит обмен веществами различной природы, то можно предположить наличие аллелопатических взаимоотношений. Были выявлены различные фитогормоны, выделяемые грибом, которые усиливают рост орхидей. Исследования синтетической активности у 16 культур грибов у эпифитных и наземных орхидей показали способность к синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Были обнаружены у некоторых микосимбионтов вещества близкие к гиббериллину, зеатину и кинетину. При проведении

хроматографического анализа у грибов были выявлены соединений индольной природы. Не исключено, что гриб – симбионт может поставлять фенольные соединения. Опыты, проводимые по экзогенному обеспечению фенолами, показали, что под их влиянием происходит установление симбиотического взаимодействия, наращивание вегетативной массы высшего растения, стимулируется расселение микоризы [5, 12, 13].

Некоторые микромицеты (*Trichoderma, Fusarium*, *Phoma)* и базидиомицеты (*Dendrobium moschatum)* ингибируют развития семян орхидей [9].

Способность грибов, ассоциированных с орхидными, выделять во внешнюю среду ауксины и другие необходимые вещества открывает возможность воздействия микроорганизмов на общий гормональный баланс растений, стимулируя дополнительное корнеобразование орхидей, а так же влиять на прорастание их семян [11].

Цель наших исследований состояла в изучении анатомо-морфологических, эмбриологических, симбиотических и аллелопатических особенностей крымских видов орхидей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили корневищные геофиты из подсемейства *Neottioideae Burns – Balog:Neottia nidus – avis* (L.) Rich*., Limodorum abortivum* (L.) Sw*., Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce*, C. longifolia* (L.) Fritsch*,* Анатомические препараты, качественные гистохимические реакции готовили по методике Р.П. Барыкиной [14]. Потенциальную и реальную семенную продуктивность определяли по методике В.В. Назарова [6].

Качественная реакция на лигнин заключалась в обработке срезов флороглюцином (триоксибензол, $C_6H_3(OH)_3 \cdot 2H_2O$) в сочетании с концентрированной соляной кислотой. Для этого готовили 5-10% раствор флороглюцина, каплю которого наносили на срез, а затем добавляли каплю концентрированной соляной кислоты. В результате реакции одревесневшие элементы приобретают малиново-красный цвет. Интенсивность цветной реакции зависит от степени одревеснения.

Для выявления пектиновых веществ срезы обрабатывали жавелевой водой, затем промывали дистиллированной водой, нейтрализовали уксусной кислотой и окрашивали метиленовым синим. В результате пектиновые вещества приобретали сине-голубой цвет.

При проведении качественной реакции на фенольные соединения срезы помещали в раствор, включающий в себя 10 мл 5% раствора нитрата натрия и две капли 50% серной кислоты. Затем добавляли каплю 5% едкого калия. Согласно данному методу хлорогеновая кислота и другие фенольные соединения с орторасположенной гидроксильной группой, вступая в реакцию с азотистой кислотой, переходят в соединение, которое с едким калием дает красное или коричневое окрашивание. Эта реакция для хлорогеновой кислоты не строго специфична. Подобное окрашивание могут давать и другие фенольные соединения (пирокатехин, протокатеховая и кофейные кислоты), а также хиноны. Таким

образом, с помощью данного метода можно качественно определить присутствие в тканях растений широкого спектра фенольных соединений [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группе корневищных геофитов проявляются отличия по длине, расположению, степени ветвления корневища. У представителей рода *Cephalanthera* корневище шнуровидное, длинное (40 – 50 см), косо расположенное в почве. У *Listera ovata* корневище короткое, толстое, а у *N. nidus – avis* короткое корневище окружено многочисленными придаточными корнями.

Для большинства исследованных видов автотрофных орхидей характерна эумицетная толипофаговая эндомикориза. Для бесхлорофильных орхидей *L. abortivum и N. nidus – avis* отмечена птиофаговая эндомикориза. Локализация эндофитных несовершенных грибов-микоризообразователей в клетках и тканях подземных вегетативных органов обусловлена их анатомо-морфологическими особенностями. В клетках эпиблемы корня гифы отсутствуют, но в корневых волосках выявлены коммуникационные гифы. В субэпидермальных слоях первичной коры корня расположены пелотоны. В мезодерме отмечено расщепление гиф. В эндодерме и центральном цилиндре гифы не обнаружены. Степень микотрофности увеличивается в 2 раза от апекса корня к его основанию. В корнеклубнях и корневищах гифы гриба обнаружены преимущественно в эпидерме и в первичной коре. В клетках первичной коры, содержащих большое количество крахмальных зерен, пелотонов нет. Наибольшее количество клеток с гифами гриба наблюдали в зоне перехода расширенной части клубня в шнуровидное окончание.

Частота встречаемости микоризной инфекции изученных видов крымских орхидей варьирует в широких пределах: от 2,8±0,2 % – *D. incarnate* до 6,3±0,2 % *N. nidus – avis*. При этом четко прослеживается тенденция – у корневищных видов степень микотрофности ниже, чем у корнеклубневых орхидей. Максимальный процент клеток корня, содержащих гифы гриба, был выявлен у *N. nidus – avis* и *L. abortivum*. Такую особенность мы связываем с тем, что данные растения являются сапрофитами. Степень микотрофности *L. abortivum* меньше, чем *N. nidus – avis*. Частота встречаемости микоризной инфекции изученных видов крымских орхидей варьирует в широких пределах (табл. 1).

Для корнеклубневых геофитов выявлена отрицательная коррелятивная зависимость (r = – 0,65) между морфометрическими параметрами и степенью микотрофности. В группе корнеклубневых геофитов с увеличением числа клеток корня, инфицированных гифами гриба, количество семязачатков в завязи и семян в коробочке уменьшается (в 1,3 – 1,5 раза, соответственно), а у корневищных геофитов эти показатели возрастают в 5 раз (табл. 2).

Корневищные геофиты, имея максимальную степень микотрофности, характеризуются минимальным количеством семязачатков в завязи и семян в коробочке. Корнеклубневые геофиты образуют большее число семязачатков в завязи цветка и семян в плоде при минимальном проценте клеток корня, содержащих гифы гриба. По-видимому, представители данной группы в большей степени зависят от семенного возобновления, чем представители корневищных

геофитов. Установлена отрицательная коррелятивная связь между степенью микотрофности и морфометрическими параметрами исследованных видов; а также между микотрофностью и потенциальной, реальной семенной продуктивностью у корнеклубневых геофитов

Таблица 1.

Влияние эдафических факторов на морфометрические параметры и микотрофность корневищных и корнеклубневых видов орхидей ($x \pm S_x$)

Вид	Высота растения, см	Количество цветков в соцветии, шт	Количество коробочек, шт	Частота встерчаемости микоризной инфекции, F	Содержание гумуса в почве, %
E. helleborine	31,5±0,3	*P. chlorantha*	10,0±0,3	3,8±0,2	2,10±003
E. helleborine	42,2±0,2	*A. pyramidalis*	4,0±0,1	3,1±0,2	2,25±0,02
C.damasonium	12,9±0,2	*A. pyramidalis*	2,0±0,2	4,9±0,3	1,96±0,03
C.damasonium	21,2±0,1	14,0±0,2	9,0±0,2	4,2±0,2	2,25±0,02
C. longifolia	17,8±0,1	7,2±0,1	4,2±0,1	4,6±0,1	1,85±0,04
C. longifolia	30,2±0,5	10,2±0,1	10,2±0,1	4,0 ±0,2	1,96±0,02
N. nidus – avis	11,1±0,5	15,2±0,5	6,0±0,5	6,6 ±0,4	2,05±0,01
N. nidus – avis	17,2±0,3	21,0±0,5	16,0±0,2	6,0 ±0,2	1,98±0,05

Таблица 2.

Репродуктивные возможности корневищных и корнеклубневых видов орхидей ($x \pm S_x$)

Вид	Частота встерчаемости микоризной инфекции, F	Количество семязачатков в завязи, шт	Количество семян в коробочке, шт
D. incarnata	2,7±0,2	7656±15	7110±11
E. helleborine	3,8±0,1	6128±36	59635±35
P. chlorantha	4,3±0,3	5831±25	4598±15
C. damasonium	4,8±0,2	7650±45	5993±12
C. longifolia	4,0±0,1	7501 ±30	6981±22
N. nidus- avis	6,2±0,3	1706±18	1092±18
L. abortivum	6,0±0,5	8363±10	6176±20
Listera ovata	4,9±0,1	6280±24	6024±25

Динамика симбиотических отношений меняется по фазам онтогенеза. Частота встречаемости микоризной инфекции уменьшается от ювенильной к генеративной стадии у всех исследованных видов. Степень микотрофности зависит от климатических и эдафических факторов. С увеличением содержания гумуса на 0,5% степень микотрофности корнеклубневых геофитов увеличивается в 1,8 раза, а корневищных – уменьшается в 2,3 раза. Действие pH среды на показатель частоты встречаемости микоризной инфекции видоспецифично. В группе корневищных

геофитов в пределах рода *Cephalanthera* у растений, с максимальной степенью микотрофности наибольшая площадь фотосинтетической поверхности и минимальное значение высоты растения, количества цветков в соцветии (рис. 1).

Эти факторы, а также недоразвитие или повреждение соцветий, несинхронность и замедленность цветения, редкий специфический опылитель, высокий уровень гетерогенности семян и зародышей по линейным параметрам, асинхронность процесса формирования зародыша,по-видимому, являются причиной низкой численности популяций *Himantoglossum caprinum* (Bieb.) C. Koch. в Крыму.

Следует отметить, что у *N. nidus – avis* и *L. abortivum* с увеличением степени микотрофности наблюдается увеличение количества цветков в соцветии и уменьшение высоты растения. Листья данных видов редуцированы до чешуй. В группе корнеклубневых геофитов с увеличением процента клеток корня, инфицированных гифами гриба, количество семязачатков в завязи и семян в коробочке уменьшается. *D. incarnata*, находящаяся в наименьшей зависимости от гиф гриба, имеет максимальное количество семязачатков в завязи и семян в коробочке.

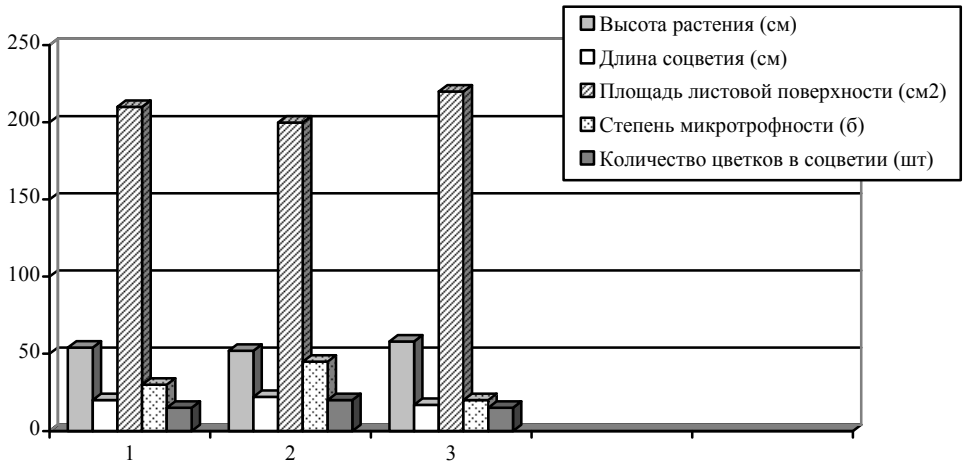


Рис. 1. Влияние степени миктротрофности на морфометрические параметры *Cephalanthera damasonium* (Mill.) Druce.

С увеличением степени микотрофности в группе корнеклубневых геофитов количество семязачатков в завязи уменьшается в 1, 3 раза, а в группе корневищных геофитов возрастает приблизительно в 5 раз. При увеличении частоты встречаемости микоризной инфекции в группе корнеклубневых геофитов количество семян в коробочке уменьшается в 1,5 раз, а в группе корневищных геофитов увеличивается примерно в 5 раз. В группе корневищных геофитов с увеличением степени микотрофноси показатели потенциальной и реальной семенной продуктивности варьируют по-разному. В пределах рода *Cephalanthera* с увеличением этого показател количество семязачатков в завязи увеличивается, а количество семян в плоде уменьшается. У сапрофитов количество семязачатков в

завязи и семян в коробочке уменьшается. *N. nidus – avis*, имея максимальный процент клеток корня, содержащих гифы гриба, характеризуется минимальными показателями потенциальной и реальной семенной продуктивности. *L. abortivum*, по степени микотрофности, отличающийся от *N. nidus – avis* всего на 0, 2 %, характеризуется максимальными показателями потенциальной и реальной семенной продуктивности. Тенденция уменьшения количества семян в коробочке характерна и для всей группы корневищных геофитов. Особый интерес представляет сравнение потенциальной и реальной семенной продуктивности между исследуемыми группами. Корневищные геофиты, имея максимальную степень микотрофности, характеризуются минимальным количеством семязачатков в завязи и семян в коробочке. Корнеклубневые геофиты образуют большее число семязачатков в завязи цветка и семян в плоде при минимальном проценте клеток корня, содержащих гифы гриба. По-видимому, представители данной группы в большей степени зависят от семенного возобновления, чем представители корневищных геофитов. В группе корне клубневых геофитов четко прослеживается уменьшение потенциальной и реальной семенной продуктивности, что отчасти связано с ксеногамным опылением. Тогда как в группе корневищных геофитов преобладает тенденция повышения потенциальной и реальной семенной продуктивности. Такая тенденция может быть отчасти объяснена особенностями опыления в пределах данной группы. *L. ovata* является облигатно ксеногамными видом. Это определяет минимальные значения его потенциальной и реальной семенной продуктивности. При минимальном количестве семязачатков он не может реализовывать свои потенциальные возможности только за счет благоприятных симбиотических отношений с грибным компонентом. При этом *N. nidus – avis* в меньшей мере зависит от агентов опыления, так как вид является облигатно автогамным.

Таким образом, репродуктивная стратегия исследуемых видов орхидей Крыма определяется степенью взаимодействия с грибом – микоризообразователем, особенностями условий произрастания и характером опыления изучаемых видов.

При проведении качественных гистохимических реакций были установлены аллелопатические взаимоотношения гриба-микоризообразорвателя с корневищными видами орхидей. У растений, находившихся в генеративном периоде онтогенеза отмечена начальная стадия лигнификации клеток паренхимы, прилегающей к центральному цилиндру, и более интенсивно лигнификация переферических участков ксилемы центрального цилиндра. Обнаружены многочисленные пелотоны в клетках первичной коры, которые дают слабую положительную реакцию на лигнин.

При качественной реакции на пектин отмечалась яркая окраска сине-голубого цвета эпиблемы и некоторых проводящих элементов ксилемы у ювенильных растений. Ксилема генеративных растений отличалась более интенсивной окраской синего цвета, а также экзодермы и перицикла.

При качественной реакции на фенольные соединение у ювенильных растений наблюдалось окрашивание эпиблемы и некоторых проводящих элементов ксилемы.

У генеративных растений эпиблема практически не окрашена. В первичной коре пелотоны приобрели светло желтую окраску, а некоторые элементы ксилемы коричневую.

Пелотоны гриба, локализированные в первичной коре на всех срезах, дальше эндодермы не проникали.

Согласно качественным гистохимическим реакциям можно отметить изменения накопления веществ лигнина, пектина и фенольных соединений в связи с изменением степени взаимодействия между высшим растением и грибом

ВЫВОДЫ

1. С увеличением содержания гумуса на 0,5% степень микотрофности корневищных геофитов уменьшается в 2,3 раза.
2. Выявлена отрицательная коррелятивная зависимость между морфометрическими параметрами и степенью микотрофности.
3. С увеличением степени микотрофности в группе корневищных геофитов количество семязачатков в завязи возрастает в 5 раз.
4. При увеличении частоты встречаемости микоризной инфекции в группе корне клубневых геофитов количество семян в коробочке уменьшается в 1,5 раза, а группе корневищных геофитов увеличивается примерно в 5 раз.
5. Репродуктивная стратегия исследуемых видов орхидей Крыма определяется степенью взаимодействия с грибом – микоризообразователем, особенностями условий произрастания и характером опыления изучаемых видов.
6. Динамика аллелопатических взаимодействий обусловлена накоплением лигнина, пектина и фенольных соединений в тканях первичной коры корневища орхидей.

Список литературы

1. Батыгина Т.Б. Эмбриология цветковых растений / Батыгина Т.Б. – С.-Пб.:Мир и семья, 2000. – 645с.
2. Вахрушева Л.П., Кучер Е.Н. Особенности репродуктивного усилия некоторых видов орхидей Крыма / Вахрушева Л.П., Кучер Е.Н.// Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 1997. – Вып. 9. – С. 65 – 67.
3. Вахрушева Л.П. Новое местонахождение *Ophrys taurica (Agg) Nevsmi* в Крыму / Л.П. Вахрушева, М.Д. Сволынский, Е.Н. Кучер // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 2002. – Вып. 12. – С. 164 – 169.
4. Собко В.Г. Орхидеи Украины / Собко В.Г. – К: Наукова думка, 1989. -190с.
5. Татаренко И.В. Микориза орхидных (*Orchidaceae)* Приморского края / И.В. Татаренко// Ботанический журнал. – 1995. –Т. 80. -№8. –С.64-72.
6. Холодов В.В. Насекомые - посетители и опылители орхидеи *Orchis purpurea* Huds. *(Orchidaceae)* в Крыму / В.В. Холодов, В.В. Назаров, С.П. Иванов // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 2002. – Вып. 12.– С.77 – 80.
7. Кучер Е.Н., Мишнев В.Г. Репродуктивное усилие у крымских орхидей в связи с их микотрофностью / Е.Н. Кучер, В.Г. Мишнев // Экология и ноосферология. – 2000. – Т.3. -С. 79 – 85.
8. Смирнова Е.С. Морфология побеговых систем орхидных / Смирнова Е.С. - М: Наука. – 1990. -207с.
9. Жизнь растений / [Тахтаджяна А.Л., Артюшенко З.Т., Грудзинская И.А., Грушвицкий И.В., Цвелев Н.Н.] –М.: Просвещение, 1982. –Т. 6. -540 с.
10. Вахромеева М.Г. Орхидеи нашей страны /Вахромеева М.Г., Денисова Л.В., Никитина С.В. –М.: Наука, 1981.- 224 с.

11. Черевченко Т.М., Заименко Н.В., Мартыненко Е.И. Биохимические особенности видов орхидных различных экотипов / Т.М. Черевченко, Н.В. Заименко, Е.И. Мартыненко // Физиологи и биохимия культурных растений .-2002. –Т. 32, №2. -С.121 -127
12. Euwe D., Nelly E.Effect of mycorrizhal fungi on in vitro nitrogen response of some dutch indigenous orchid species // Can. I. Bot. -1995. –V. 73, №8. -1203 -1211p.
13. Матвеев Н.М. Аллелопатия как фактор экологической среды / Матвеев Н.М. – Самара: Самар. университета, 1994. – С. 3-20.
14. Барыкина Р. П., Веселова Т. Д. Основы микротехнических исследований в ботанике / Р.П. Барыкина, Т.Д.Веселова. – М:МГУ. – 2000. – 125с.

Лисякова Н.Ю., Сімагіна Н.О. **Динаміка симбіотичних і алелопатичних стосунків у кореневищних видів орхідей** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С.78-85.

У 4 представників підродини *Neottioideae*, які відносяться до групи кореневищних геофітів, виявлені особливості локалізації ендомікотрофного компонента, динаміка симбіотичних і алелопатичних стосунків в різні стадії онтогенезу, вплив едафічних і кліматичних чинників на міру мікотрофності. Встановлена негативна корелятивна залежність між мірою мікотрофності і морфометричними параметрами, а також потнециальной і реальною насінною продуктивністю кореневищних орхідей Криму.

Ключові слова: орхідеї, мікотрофність, алелопатія.

Lysyakova N.Yu., Simagina N.O. **Dynamics of symbiotic and allelopathic interaction of rhizomatous Crimean orchids //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 78-85.

At 4 representatives of subfamilies *Neottioideae*, concerning to groups of rhizomatous geophytes, peculiarities of localization of endomycotrophic component, dynamics of symbiotic and allelopathic interaction on ontogenesis phases, influences of edaphic and climatic factors on a degree of micotrophity are revealed. It is established negative correlative dependence between a degree of micotrophity and morphometric parameters, and also potential and real seed efficiency of rhizomatous species of Crimean orchids.

***Keywords*:** orchids, micotrophity, allelopathy.

Поступила в редакцию 07.05.2009г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 86-91.

УДК 612.57:544.018.4

ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ КИСЛОТОУТВОРЮЮЧОЇ ФУНКЦІЇ ШЛУНКУ ЗА ІОННИМ СКЛАДОМ ЗМІШАНОЇ СЛИНИ У ОСІБ З ПАТОЛОГІЯМИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ТА У ЗДОРОВИХ ОСІБ

Маркіна М.В., Ляшенко В.П., Руденко А.І., Вяткін О.К.

Досліджені взаємозв'язки між вмістом масових концентрацій катіонів та аніонів в шлунковому та слинному секреті, що відображає функціональний стан органів травлення в цілому. Показаний кореляційний аналіз електролітних елементів рідини ротової порожнини (змішаної слини) та шлункового соку, що становить пряму залежність між масовими концентраціями катіонів натрію, аніонів хлору та кислотоутворюючої функцією шлунку.

Ключові слова: шлунковий сік, електролітний склад, капілярний електрофорез.

ВСТУП

Незважаючи на значні досягнення мирової науки останніх років по вивченню етіології, патогенезу, відкриття нових методів діагностики і лікування, у всіх країнах світу відмічається зростання частоти хвороб та зміною структури захворювань сучасної людини.

Розвиток науково-технічного прогресу, а також отримання нових знань щодо регуляції діяльності шлунково-кишкового тракту привели до переоцінки ряда положень, які закріпилися в гастроентерології [1].

Метою роботи є виявлення взаємозв'язків між катіонно – аніонним складом слини, шлункового соку та кислотоутворюючої функцією шлунку у людей з захворюваннями органів травлення та у здорових осіб за допомогою сучасного методу аналізу – системи капілярного електрофорезу, а також подальшої атестації методики виконання вимірювань.

Своєчасне виявлення розвитку предпатологічного та патологічного стану дозволить правильно оцінити функціональний стан органів і систем організму, що означає правильно провести підбір індивідуальної корекції порушених функцій. Патологічний процес в організмі протікає не ізольовано, а порушує також суміжні органи та системи.

Вивчення міжорганних взаємозв'язків між слинними залозами, як органами верхнього відділу шлунково-кишкового тракту з функціональною діяльностю шлунку і дванадцятипалої кишки є актуальною і заслуговує більш ретельного вивчення з боку дослідників.

Дослідження шлункового соку широко застосовуються на практиці, але в більшості випадків являють собою дослідження соляної кислоти та ферментів і в дуже рідких випадках іонного складу.

Висока стабільність хімічного складу рідин живого організму є необхідною умовою ефективного функціонування органів та систем. Цілковито це має відношення і до слини, важливу роль якої в забезпеченні нормальної функції органів ротової порожнини, шлунково-кишкового тракту та всього організму в цілому важко переоцінити. У зв'язку з певною легкістю отримання (слину відбирають натще, після ретельного промивання ротової порожнини дистильованою водою; центрифугують і фільтрують) та аналізу складу слини по її показникам розробляються методи оцінки не тільки секреторної функції слинних залоз, але й інших органів травної системи (підшлункової залози, печінки тощо).

Між різними відділами системи травлення існує взаємозв'язок і наступність у роботі, зумовлені неперервністю травного каналу, а також спільністю нервових і гуморальних механізмів регуляції. Особливо наочно цей зв'язок виявляється за умов патології, коли розлад функції одного відділу системи травлення призводить до порушень в інших відділах.

Таким чином, вивчаючи функціонування механізмів ротової порожнини, можна отримати дані щодо негативного зовнішнього впливу, так і щодо порушення нейрогуморальної регуляції як наслідок будь якого захворювання [2, 3].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були рідина ротової порожнини (змішана слина) та шлунковий сік.

Проведені дослідження електролітного складу слини та шлункового соку у здорових осіб, та у людей з патологією верхнього відділу шлунково-кишкового тракту, з жовчекам'яною хворобою і постхолецистектомічним синдромом та при неспецифічному виразковому коліті. Всього виконано 60 аналізів.

Засіб збирання змішаної слини простий, безпечний для пацієнта (відбувається після промивання ротової порожнини охолодженою кип'яченою водою в перервах між прийомами їжи). Він може виконуватись багаторазово, в будь-який час протягом доби. Саме тому дослідження слини може бути в певній мірі альтернативою інвазивним методам та дослідженням.

Збирання шлункового соку відбувається за допомогою зондів натще, використання яких не завжди позитивно сприймається пацієнтами. Взагалі є певні категорії людей, у яких спостерігається негативне ставлення до досліджень за допомогою зондування. В зв'язку з цим стає актуальним питання пошуку альтернативних методів дослідження. Катіони K, Na, Ca, Mg та ін., аніони Cl входять до складу слини, шлункового соку та ін. біологічних рідин організму, являються їх структурними елементами [4, 5].

На відміну від традиційно існуючої думки щодо слини як іонно- білковому водному розчині, в якому находиться складний комплекс білків та різних іонів, в наш час отримані дані, які дозволяють показати слину як структуровану систему.

Структурований стан слини дозволяє цілковито з інших позицій розглядати слину, її стійкість, вплив на неї різних фізіологічних та патологічних факторів.

Будь які зміни концентрації іонів в слині також небайдужі щодо стійкості міцел. З цих позицій стає більш зрозуміла роль порушення іонного складу слини у

фізіологічних процесах та при розвитку патології.

Слина відіграє важливу роль у підтриманні фізіологічної рівноваги багатьох процесів життєдіяльності організму.

Вивчення pH слини привертало увагу дослідників. Це пов’язано з важливою роллю, яку відіграє кислотний фактор ротової порожнини у патогенезі. Характерною рисою більшості досліджень кислотності середовища в ротовій порожнині є прагнення знайти джерело продукції кислоти и довести її прямий вплив, як ведучого ланки патогенезу.

Тільки за останні роки зацікавленість дослідженнями слини збільшилась. Це пов'язано з різноманітними її функціями, властивостями та можливостями використання. Відомо, що склад слини та шлункового соку корелюють із складом інших рідин організму, тому результати досліджень їх складу мають діагностичне значення [6 – 8].

Визначення катіонів натрію та аніонів хлору в слині та шлунковому соку виконували шляхом капілярного електрофорезу за допомогою прибору "Капель 103Р" фірми "Люмекс" (Росія), ваг лабораторних, дозаторів пипеточних змінних обсягів, pH-метру, програмного забезпечення "Мультихром".

Одним із сучасних методів, які до теперішнього часу практично не використовувались в гастроентерології, являється метод капілярного електрофорезу, суть якого полягає в міграції та розподілі компонентів рідинної суміші під впливом електричного поля. Таким чином, можливо за одне введення проби ідентифікувати та кількісно визначити декілька близьких за будовою речовин із складу однієї суміші.

Спосіб визначення катіонів натрію та аніонів хлору в слині та шлунковому соку містить підготовку проби, центрифугування в технологічно пройнятому режимі, ідентифікацію на заданій довжині хвилі аналізатора, та якісно-кількісний аналіз, сканували оптичну щільність поляризованих проб, перетворювали її у аналогово-цифровий сигнал, отримували електрофореграми, з яких ідентифікували амплітуди сигналів катіонів та аніонів, при відповідній полярності потенціалів джерела живлення.

Компоненти, що розділяються, виходили з різними швидкостями і фіксувалися автоматично за допомогою фотометричного детектора на довжині хвилі 254 нм на електрофореграмі, яка уявляє собою набір добре виражених позитивних піків, що піднімаються над базовою лінією. Отримані аналітичні сигнали у вигляді позитивних піків на електрофореграмі використовували для ідентифікації та кількісного визначення.

Концентрацію елементів в пробі визначали за величиною площини піків відповідного катіону (або аніону) і калібрувальної кривої.

Слід зазначити, що тривалість одного визначення не перевищує 20 хвилин. При кількісному визначенні використовували метод зовнішнього стандарту.

Дослідження складу слини та шлункового соку, які мають важливе значення для функціонування органів травлення та всього організму, важливо як для оцінки функції органів, встановлення їх захворювань, так і розуміння механізмів їх розвитку.

Проведені дослідження дозволили встановити взаємозв'язок між вмістом катіонів та аніонів в шлунковому та слинному секреті, що відображає функціональний стан органів травлення в цілому [9 – 11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Кількісне визначення проводили за допомогою градуювального графіка та методу добавок. Для побудови градуювальник графіків готували серії стандартних розчинів методом розведення визначених порцій вихідних розчинів у пробірках Епендорфа.

Для кожної концентрації реєстрували в оптимальних умовах електрофореграми і по них обчислювали середнє значення площі піку із трьох вимірів.

Градуювальну залежність будували в координатах: середня площа піка від концентрації. Для точного будування градуювальної залежності застосовували лінійну регресію за методом найменших квадратів.

Визначення змісту компонента методом добавок припускає аналіз двох розчинів – досліджуваної проби та проби з добавкою. Величина добавки повинна бути такою, щоб концентрація обумовленої речовини в пробі з добавкою зросла на 50-150% стосовно його концентрації в пробі [11 – 13].

Обчислення результатів проводили, використовуючи програмне забезпечення «Мультихром для Windows», що формує звіт із вказівкою концентрацій аналізуємих компонентів.

Вивчення кореляційного аналізу електролітних елементів слини та шлункового соку, показало пряму залежність між катіонами натрію, аніонами хлору та кислотоутворюючої функцією шлунку. Коефіцієнт кореляції r = 0,8.

На основі отриманних даних пропонуємо новий спосіб визначення стану кислотоутворюючої функції шлунку за електролітним складом слини, а саме за рівнем катіонів натрію та аніонів хлору.

Згідно з даними літератури подібні розробки проводяться в провідних країнах світу (Росія, США, Велика Британія, Японія) [12].

Дані таблиці 1 дають можливість спостерігати пряму залежність між масовою концентрацією катіонів натрію та аніонів хлору змішаної слини та кислотоутворюючої функцією шлунку.

Таблиця 1.

Залежність між масовою концентрації електролітів змішаної слини та кислотоутворюючою функцією шлунку

pH	pH шлункового вмісту 0,95-2,0	pH шлункового вмісту 2,0-4,0	pH шлункового вмісту 5,0-7,0 та більше
Співвідношення коефіцієнтів Na+ слини/Na+ шлункового соку	1,4 ÷ 1,5 ммоль/л	0,4 ÷ 0,5 ммоль/л	0,07 ÷ 0,08 ммоль/л
Співвідношення коефіцієнтів Cl- слини/Cl- шлункового соку	0,4 ÷ 0,5 ммоль/л	0,3 ÷ 0,4 ммоль/л	0,1 ÷ 0,2 ммоль/л

Дослідження, згідно з заявленим способом можуть бути виконані в умовах звичайної лабораторії при кімнатній температурі, атмосферному тиску та вологості, згідно з вимогами до лабораторії. Робота виконана на базі ДП «Дніпростандартметрологія» та інституту Гастроентерології АМН України.

Спосіб забезпечує високу чутливість розпізнання компонентів, точність дослідження, швидкість визначення і головне для виконання аналізу необхідна мала кількість проби, що дозволяє досліджувати рідини невеликого об'єму.

ВИСНОВКИ

1. Використання запропонованого способу дозволить скоротити час визначення, зменшити трудомісткість способу за рахунок скорочення багатьох довготривалих етапів, значно знизити витрати на його проведення та головне дати можливість пацієнтам, які не переносять зондування, або які мають протипоказання з різних причин на використання зонду, визначити рівень кислотоутворюючої функції шлунку.
2. Метод визначення стану кислотоутворюючої функції шлунку за показниками катіонно – аніонного складу змішаної слини дає можливість проводити діагностування оперативно, без використання загальноприйнятого зондування, більш вірогідно, з мінімальними затратами коштів, а також безпечно та комфортно, що значно сприятиме захисту життя та здоров’я людини.

Список літератури

1. Дегтярева И. И. Заболевания органов пищеварения / И. И. Дегтярева – К., 1999. – 312с.
2. Хвороби органів травлення (діагностика і лікування) / [П. Я. Григор’єв, Є. М. Стародуб, Є. П. Яковенко и др.]. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. –448с.
3. Modlin Irlin M., Sachs George. Acid related diseases (Biology and Treatment) / Modlin Irlin M., Sachs George – Schnetzor-Verlad GmbHD-Konstanz, 1998. – 368 p.
4. Лея Ю. Я. pH-метрия желудка / Ю. Я. Лея – Л.: Медицина, 1987. –144 с.
5. Чернобровый В.Н. Экспресс-методика внутрижелудочной pH-метрии / В. Н. Чернобровый // Лаб. Дело. –1990. – №3. – С. 44-48.
6. Руденко А.І. Внутрішньошлункова pH-метрія та трансмукозний потенціал слизової оболонки шлунка / А. І. Руденко // Фізіол. Журнал. – 1998. – Т. 44, №3. – С. 171-172.
7. А.с. 1475599 СССР, МКИ А 61 В 10/00 - №4024896/28– 14. Способ определения состояния нервной регуляции желудочной секреции / В. П. Крышень, А. И. Руденко. Заявлено 20.02.86; Опубл. 15.05.89, Бюл. № 6. – 14 с.
8. Пат. 17499 А. Україна, МКІ А 61 М 25/00.- № 96072608. Зонд для дослідження органів травлення / Ю. О. Філіпов, О. Ф. Крекнін, І. М. Бондаренко, А. І. Руденко Заяв. 02.07.96; Публ. 31.10.97, Бюл. № 5. – 7 с.
9. Горшков В.А. Кислотозависимые заболевания и кризис функциональных методов исследования желудка / В. А. Горшков // Сучасна гастроентерологія. – 2002. – № 3. – С. 7-12.
10. Майкова Т.В. Состояние ультрадианного ритма секреторной активности желудка при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, сочетанной с хроническим бескаменным холециститом и хроническим панкреатитом / Т. В. Майкова // Український терапевтичний журнал. – 2004. – № 3. – С. 15-19.
11. Слесарев В.И. Основы химии живого / Слесарев В.И. – СПб.: Химиздат, 2000. –529 с.
12. Руководство по капиллярному электрофорезу / [Лекции проф. Энгельгардта Х.]. – М., 1996. – С. 45. (Научный совет Российской академии наук по хроматографии).

13. Wehr N. Capillary Electrophoresis of Proteins / Wehr N., Rodrigue-Diaz R., Zhu M. – N.Y.: Marsel Dekker, 1998. – 368 p.

Маркина М.В., Ляшенко В.П., Руденко А.И., Вяткин А.К. **Исследование состояния кислотообразующей функции желудка по ионному составу смешанной слюны у пациентов с патологиями желудочно-кишечного тракта и у здоровых людей** // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского, Серия „Биология, химия". – 2009. – Т. 22 (61). – № 2. – С.86-91.

Исследованы взаимосвязи между содержанием массовых концентраций катионов и анионов в желудочном и слюнном секрете, что отображает функциональное состояние органов пищеварения в целом. Показан корреляционный анализ электролитных элементов смешанной слюны и желудочного сока, устанавливающий прямую зависимость между массовыми концентрациями катионов натрия, анионов хлора и кислотообразующей функции желудка.

Ключові слова: чоловічий гаметофіт, фертильність, життєздатність пилку

Markina M.V., Lyahenko V.P., Rudenko A,I., Vyatkin A.K. **Investigations state of function acid-forming stomach over electrolytic composition of saliva at the patients with gastrointestinal tract disease and at sounds persons //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 86-91.

Investigated the dynamics of cooperation of noradrenergic and GABA-ergic mediator systems during of long duration stress, analyzing caused by him the changes of wave powers of ergotropic hypothalamic area background total electric activity in narcotized rats. The electrographic displays of the indicated systems' activity were got by application on a background a stress situation of central neurotransmission modulators – amitriptilin, aminazin, carbamazepin.

Keywords: long duration stress, bioelectric activity, hypothalamus, noradrenergic system, GABA-ergic system.

Поступила в редакцию 20.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 92-102.

УДК 612.82:612.176+612.82:615.21

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕДИАТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ МОДУЛЯЦИИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ ФОНОВОЙ СУММАРНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭРГОТРОПНОЙ ЗОНЫ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС

Мельникова О. З., Ляшенко В. П.

Исследовали динамику взаимодействия норадренергической и ГАМК-эргической медиаторных систем в течение длительного стресса, анализируя вызванные им изменения мощности волн фоновой суммарной электрической активности эрготропной зоны гипоталамуса наркотизированных крыс. Электрографические проявления активности указанных систем были получены с помощью применения на фоне стрессовой ситуации модуляторов центральной нейротрансмиссии – амитриптилина, аминазина, карбамазепина.

Ключевые слова: длительный стресс, биоэлектрическая активность, гипоталамус, норадренергическая система, ГАМК-эргическая система.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что при сильном или длительном стрессовом воздействии возникающая в организме стресс-реакция последовательно переходит из одной фазы в другую: от тревоги через стадию адаптации к истощению [1 – 4]. Протекание каждой из них происходит на фоне определённого нейроэндокринного статуса организма и характеризуется комплексом вегетативных проявлений [5 – 7]. Несмотря на то, что проблема стрессовых воздействий является одной из самых актуальных в физиологии, до настоящего времени не вполне ясно, что собственно истощается и приводит адаптивную по своей сути реакцию в стадию, имеющую неблагоприятные последствия для организма.

Возникновение стресс – реакции связано с активацией центрального звена стресс – системы организма – гипоталамо-гипофизарного комплекса, координирующего эндокринную регуляцию обмена веществ с работой вегетативной нервной системы и эмоционально-поведенческими реакциями лимбической системы [1 – 5]. При этом для запуска и регуляции такой реакции необходима интеграция информации о стрессовом воздействии и о состоянии внутренней среды организма, которая происходит в заднем гипоталамусе [8, 9]. Там же расположены центры эрготропных реакций организма, реализация которых связана с активным расходованием энергетических ресурсов организма для преодоления стрессовой нагрузки и формирования адаптации [10]. Поэтому исследование функционального состояния эрготропной зоны гипоталамуса может способствовать выяснению возможных механизмов длительного стресса,

выявлению наиболее ранних проявлений различных фаз стресс-реакции организма и оптимальных путей их коррекции.

В свою очередь, механизмы деятельности мозга реализуются посредством различных медиаторных систем. В многочисленных работах показано, что состояние этих систем отражается в фоновой электрической активности (ЭА) нейронов и различных мозговых структур [3, 9, 11 – 16]. Это понятно, учитывая роль медиаторов в передаче возбуждения между нейронами и возникновении в их мембранах торможения – процессов, имеющих электрическую природу. Кроме того, медиаторы выполняют метаболическую функцию [15]. Однако динамика состояния медиаторных систем в ходе длительного стрессового воздействия практически не изучена.

Известно, что в центральных механизмах стресс-реакции организма ключевую роль играют моноаминергические системы мозга, одной из которых является норадренергическая система, а её медиатор норадреналин является основным медиатором стресс-активирующей системы мозга [1 – 5, 13 и др.]. Чрезмерное развитие стресс-реакции контролируется стресс-лимитирующими системами организма, одной из которых служит центральная ГАМК-ергическая система, от мощности которой зависит устойчивость к стрессовым воздействиям [1, 17 – 21]. Согласно современным взглядам, именно несбалансированное состояние моноаминергических и ГАМК-ергических процессов в мозге является причиной, по крайней мере, центральных патологических состояний, генез которых связан со стрессовыми нагрузками на организм [18, 22]. Изучение динамики состояния указанных медиаторных систем в ходе длительного стресса с помощью регистрации фоновой суммарной ЭА структур мозга, в частности эрготропного отдела гипоталамуса, представляет, по нашему мнению, очевидный научный интерес. Оно может способствовать, в определённой мере, раскрытию механизмов перехода одной стадии стресса в другую. Такое изучение является возможным, если на фоне стрессовой ситуации использовать модуляторы центральной нейтротрансмиссии, которые широко применяются в клинике для увеличения мощности ГАМК-системы путём воздействия на моноаминоэргические системы (амитриптилин, аминазин), и сравнить полученные данные с результатами исследования в контроле и при стрессовом воздействии, а также в условиях применения препарата, среди механизмов которого значительную роль играет прямое увеличение содержания в мозговых структурах ГАМК вследствие блокирования разрушающего её фермента ГАМК-декарбоксилазы (карбамазепин) [23, 24].

Целью данной работы было изучение взаимодействия норадренергической и ГАМК-эргической медиаторных систем в ходе длительного стресса на основе характеристик фоновой суммарной биоэлектрической активности эрготропной зоны гипоталамуса наркотизированных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты были проведены согласно международным требованиями и нормам гуманного отношения к животным на нелинейных белых крысах – самцах, масса которых в начале исследования составляла 200-230 гр. Общая длительность эксперимента составила 21 неделю.

Животные были разделены на пять групп. В первую из них вошли крысы (n = 24), которых в течение всего эксперимента содержали в стандартных условиях

[4]. Животным остальных групп (в каждой n = 21) на протяжении 21ой недели создавали стрессовую (зооконфликтную) ситуацию путём ограничения жизненного пространства до *80-100см*^{2} на одну особь [25]. К животным одной из указанных групп (второй экспериментальной), которая далее будет называться стрессовой группой, не применяли дополнительно никаких воздействий. Крысам третьей группы (n = 21) на фоне стрессового воздействия вводили амитриптилин в дозе 5 мг/кг массы тела животного в сутки, животным четвёртой группы – 10 мг/кг/сутки аминазина, а крысам пятой группы – 50 мг/кг/ сутки карбамазепина.

Фоновую биоэлектрическую активность гипоталамуса крыс разных экспериментальных групп регистрировали через каждые 3 недели на протяжении всего эксперимента. У животных контрольной группы первая запись электрогипоталограммы (ЭГпГ) была проведена в самом начале эксперимента, следующая через 3 недели, потом через 6 недель, 9 недель и т.д. Регистрацию биоэлектрической активности гипоталамуса в стрессовой группе животных и у крыс, которые на фоне стресса получали фармакологические препараты, начинали через 3 недели после начала соответствующих воздействий, а далее, как в контрольной группе.

Хирургическая процедура подготовки к эксперименту проводилась под действием наркотических веществ: кетамина (*20мг/кг*) и тиопентала натрия (*50мг/кг*). Наркотизированное животное закрепляли в стереотаксическом приборе СЭЖ–2 и осуществляли трепанацию черепа. Регистрацию фоновой биоэлектрической активности гипоталамуса проводили униполярным игольчатым электродом (сталь, диаметр *100мкм*, лаковая изоляция), который погружали в структуры гипоталамуса перпендикулярно его поверхности с помощью манипулятора. Индифферентный электрод закрепляли на ушной раковине животного. Координаты структур определяли по атласу [26]. Их значения для задней зоны гипоталамуса (dorsal hypothalamic area – DHA) были такими: B: -2,3; L: 0,3; I: 8. Идентификацию локализации электродов проводили на фронтальных срезах мозга.

В исследованиях использовали стандартное электрофизиологическое оборудование с 16-разрядным АЦП (частота выборки – 512 Гц). Эпоха регистрации биоэлектрической активности с каждой зоны составляла 1 минуту. Запись и сохранение результатов экспериментальных исследований проводили на ЭВМ с помощью специально разработанной программы “Experiment” (институт физиологии им. О. О. Богомольца, г. Киев).

Дальнейшую обработку зарегистрированных гипоталограмм осуществляли с помощью пакета прикладных программ в составе “MathCAD 2000”. При этом во всех записях биоэлектрической активности длительность эпохи анализа составляла 10 с с шагом дискретизации частоты *df*, равным 0.1 Гц. Для устранения краевых эффектов применяли окно Хемминга. Анализировали среднюю мощность (*мкВ*^{2}) и спектральную мощность (%) волн разных частотных диапазонов, выделенных методом цифрового преобразования Фурье согласно общепринятой классификации колебаний [27].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Origin 6.0 Professional. Вычисляли средние значения исследованных

характеристик ЕГтГ и ошибки средних. Достоверность разницы значений абсолютной и спектральной мощности волн основных частотных диапазонов, полученных в разных экспериментальных группах в каждую экспериментальную неделю, оценивали путём парных сравнений средних с помощью проверки нулевой гипотезы по критерию Стьюдента. Изменения биоэлектрической активности считали достоверными, если доверительная вероятность ненулевой гипотезы превышала общепринятое для медико-биологических исследований значение, что соответствовало уровню значимости P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты наших исследований показали, что характеристики фоновой суммарной биоэлектрической активности гипоталамуса крыс изменялись в каждой отдельной группе на протяжении 21-недельного эксперимента и у животных разных экспериментальных групп в определённые его недели относительно друг друга. Динамика мощностей волн различных частотных диапазонов ЕГпГ крыс контрольной, стрессовой и аминазиновой групп представлена на рис. 1.

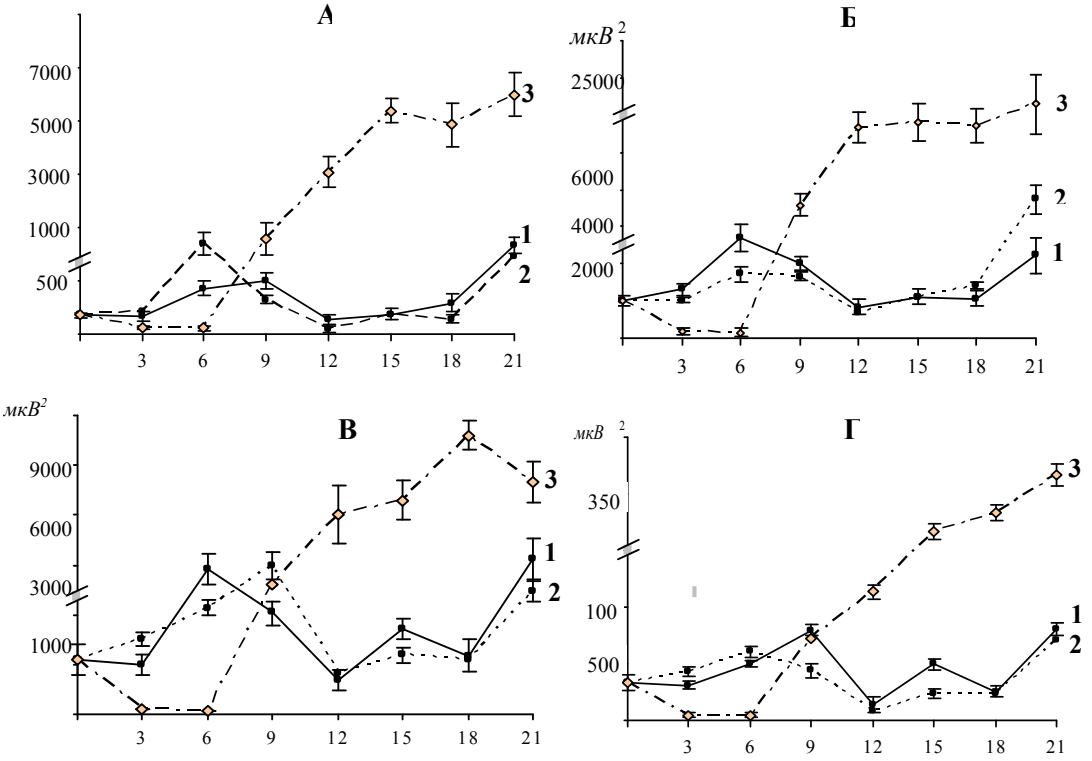


Рис. 1. Динамика мощностей волн дельта (А) -, тета (Б) -, альфа (В)-, бета (Г) - диапазонов ЭГтГ наркотизированных крыс контрольной (1), стрессовой (2) и аминазиновой (3) групп.

В контрольной и стрессовой группе животных наблюдалась в достаточной мере сходная динамика исследуемого показателя в течение эксперимента. С начала эксперимента и до 6ой – 9ой недели происходило увеличение мощности волн различных частотных диапазонов. Потом до 12ой недели исследования значение анализируемого показателя резко уменьшалось, а к 15ой неделе происходило его частичное восстановление. До 18ой недели мощности волн ЕГтГ снова уменьшались до минимума и к 2ой неделе увеличивались до максимального значения. Таким образом, на протяжении эксперимента в контрольной и стрессовой группах происходили периодические колебания мощности волн ЕГтГ крыс, в течение которых менее мощная электрическая активность заменялась более мощной и наоборот.

Сравнение абсолютных значений мощностей волн ЕГтГ, зарегистрированных в определённые недели эксперимента в контрольной и стрессовой группах, показало, что с 3ей до 9ой недель исследования под действием стрессовой нагрузки увеличивалась мощность дельта волн. Начиная с 12ой недели, она уменьшалась относительно контроля, что наблюдалось до конца эксперимента. Подобным образом изменялись в стрессовой группе относительно контрольных значений величины мощностей альфа- и бета-волн. Исключением было возрастание исследуемого показателя мощности волн альфа-диапазона, которая на 15ой неделе исследования превышала контрольное значение, а потом достоверно не отличалась от контроля. Мощность волн тета-диапазона была снижена в стрессовой группе относительно контрольных значений с 3ей до 15ой недель эксперимента, а с 18ой до 21ой недели превышала значение аналогичного показателя в контроле.

В аминазиновой группе животных динамика мощностей волн ЕГтГ существенно отличалась от динамики анализируемого показателя электрической активности в контрольной и стрессовой группах. Она становилась двухфазной: первая фаза заключалась в существенном снижении мощностей волн всех частотных диапазонов, во второй фазе, напротив, происходило значительное нарастание мощностей волн ЕГтГ животных. Поскольку аминазин (и другие использованные в исследовании препараты) применяются для увеличения мощности ГАМК-системы путём влияния на моноаминергическую нейротрансмиссию в структурах мозга, мы предположили, что две фазы изменения мощности волн ЕГтГ отражали указанный механизм их действия.

Влияние амитриптилина и карбамазепина на мощность волн ЕГтГ крыс было подобным описанному в аминазиновой группе, однако наблюдались количественные различия в степени изменения анализируемого показателя относительно его значений в стрессовой группе. Так максимальное снижение мощности колебаний дельта-диапазона до 3ей недели эксперимента наблюдалось в аминазиновой группе (в 46 раз), тогда как в амитриптилиновой – в 40 раз, а карбамазепиновой – в 32. То же можно сказать и про нарастание мощностей в течение второй фазы действия лечебных препаратов: увеличение анализируемого показателя было наибольшим в карбамазепиновой группе (в 35 раз), меньшим в аминазиновой группе (в 32 раза) и наименьшим – в амитриптилиновой группе (в 30 раз). Мощности других частотных диапазонов ЭГтГ под влиянием препаратов изменялись аналогично, что, по нашему мнению, связано с особенностями их

действия в синапсах. Так, карбамазепин, блокируя потенциалзависимые натриевые каналы в мембранах, ограничивает действие возбуждающих медиаторов, но также он угнетает ГАМК-декарбоксилазу, что способствует не только компенсаторному, но и прямому увеличению содержанию ГАМК в структурах мозга [23]. Действие аминазина и амитриптилина вызывает активацию ГАМК-системы непрямым путём.

Следует отметить, что динамика мощностей волн ЭГтГ была одинаковой в различных частотных диапазонах у животных каждой экспериментальной группы (рис. 1). Поэтому вторым показателем суммарной фоновой электрической активности в нашем эксперименте стала спектральная мощность волн ЭГтГ (рис. 2).

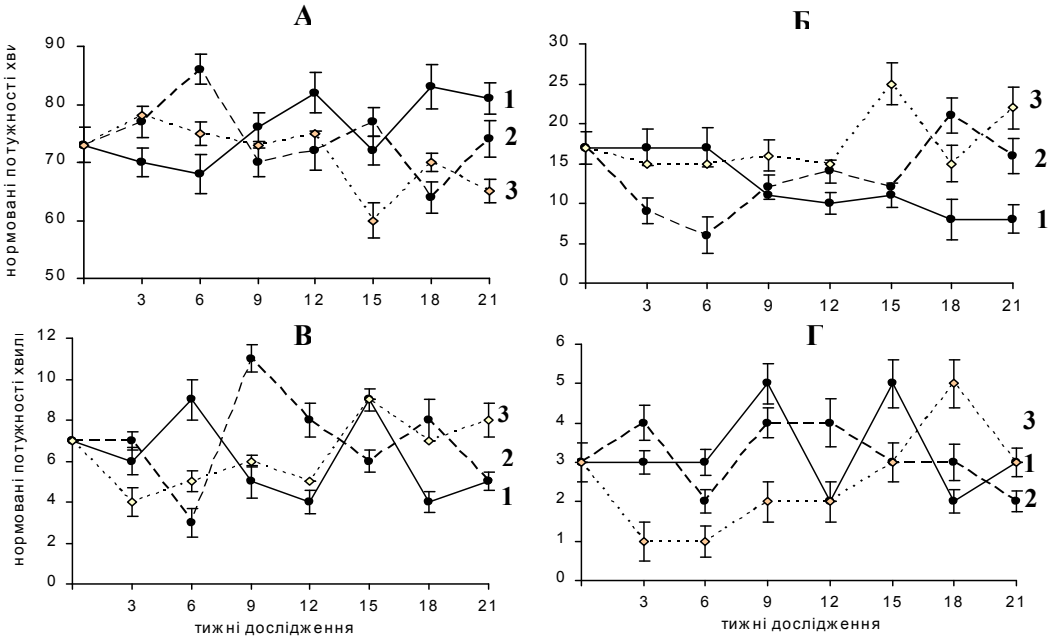


Рис. 2. Динамика спектральных мощностей волн дельта (А) –, тета (Б) –, альфа (В) –, бета (Г) – диапазонов ЭГтГ наркотизированных крыс контрольной (1), стрессовой (2) и аминазиновой (3) групп

Динамика указанного показателя в каждой отдельной группе также имела свои особенности, мы укажем лишь на межгрупповые различия спектральной мощности волн ЭГтГ в ходе исследования. В стрессовой группе с начала эксперимента до 6ой недели происходило нарастание спектральной мощности дельта – волн относительно контроля. До 9ой недели произошло снижение указанного показателя, что наблюдалось до конца эксперимента. Динамика спектральной мощности тета-волн в ЭГтГ крыс стрессовой группы имела по сравнению с контролем противоположные описанным для дельта-активности различия. До 6ой недели значения указанного показателя были сниженными относительно контроля, а с 9ой недели и до конца эксперимента – превышали контрольные величины. Спектральные мощности альфа- и бета - волн в стрессовой группе изменялись

относительно контроля более вариабельно. Так, через 3, 9-12 и 18 недель исследования были получены значения спектральной мощности альфа-волн, которые превышали контрольные величины, а через 6 и 15 – наоборот. То же с некоторыми особенностями можно было отметить про изменения под влиянием стрессовой ситуации спектральной мощности бета-волн.

В аминазиновой группе спектральная мощность дельта- и тета-волн изменялась относительно контроля подобно тому, как это происходило в стрессовой группе. Однако до 3^{ей} – 6ой недель эксперимента нарастание анализируемого показателя дельта-волн и снижения для волн тета-диапазона было менее выраженным. До 9ой недели ситуация менялась на противоположную – спектральная мощность дельта-активности уменьшалась, а тета–волн – увеличивалась относительно контроля, причём в аминазиновой группе более существенно, чем в стрессовой.

Относительно изменения спектральной мощности волн альфа- и бета-диапазонов в аминазиновой группе можно отметить более стабильные изменения по сравнению с контролем, чем те, которые были описаны в стрессовой группе. Спектральная мощность альфа-волн была снижена с 3^{ей} до 6ой недель эксперимента, а на протяжении оставшейся его части наблюдалась тенденция к увеличению этого показателя в ЭГтГ животных аминазиновой группы. Спектральная мощность бета-волн у таких крыс была снижена в ходе почти всего исследования, хотя наблюдалась тенденция увеличения данного показателя. В амитриптилиновой и карбамазепиновой группах изменения спектральных мощностей волн различных частотных диапазонов были подобными описанным в аминазиновой группе.

Результаты наших исследований в группах животных, которым на фоне стресса вводили лечебные препараты, показали, что модуляция нейропередачи в моноаминергических и ГАМК-эргической системах мозга существенно сказывается на мощности и спектральной мощности фоновой суммарной электрической активности эрготропного отдела гипоталамуса животных. Такие результаты подтверждают экспериментальные данные, полученные путём отведения электрической активности различных областей мозга животных и при энцефалографических исследованиях людей [4, 5, 11 – 16, 19]. В нашей работе уменьшение интенсивности норадренергической нейропередачи (под действием аминазина, карбамазепина) приводило к снижению мощности ритмов ЭГтГ. То же наблюдалось при блокаде обратного захвата норадреналина амитриптилином, т.е. в условиях накопления в синаптической щели указанного медиатора, что, очевидно, отражало преобладание в течение первой фазы стресс-реакции процессов возбуждения в эрготропном отделе гипоталамуса над тормозными процессами.

Известно, что в синапсах существуют механизмы, которые способствуют саморегуляции нейропередачи в них [14, 15, 20]. Так, при уменьшении количества медиаторов увеличивается число рецепторов к ним в постсинаптических мембранах, происходит увеличение квантовой активности медиатора за счёт синхронного его поглощения и усиление его синтеза пресинаптическими нейронами [20]. Результатом этого является возрастание возбудимости постсинаптических мембран, что, в свою очередь, может приводить к компенсаторному увеличению активности ГАМК-системы [8, 23, 24]. В наших исследованиях такие процессы

проявлялись в увеличении мощности волн различных частотных диапазонов ЭГтГ животных, которым на фоне стресса вводили лечебные препараты, начиная с 6ой недели и до конца эксперимента. При этом в электрической активности возрастала спектральная мощность тета- и альфа волн, в генерации которых ведущую роль имеют тормозные механизмы, служащие для синхронизации электрической активности нейрональных групп [10]. Это согласуется с современными данными о том, что сбалансированное состояние возбудительных и тормозных процессов проявляется в синхронизации ритмов суммарной электрической активности [26], а причиной, по крайней мере, центральных патологических состояний, связанных с пережитым стрессом, является нарушение указанного баланса, а не недостаточность какой-либо одной медиаторной системы мозга [17, 22, 26].

Рассматривая с такой точки зрения динамику характеристик ЭГтГ животных контрольной и стрессовой групп можно предположить, что наблюдавшиеся в ходе эксперимента периодические колебания мощности волн, в течение которых менее мощная электрическая активность заменялась более мощной и наоборот, могли быть в определённой мере обусловлены изменениями в состоянии моноаминергических и ГАМК-эргической систем мозга. Влияние стрессовой нагрузки на эти процессы могли отражать изменения нейро-эндокринного статуса животных в течение сменяющих друг друга различных фаз стресс-реакции организма, развитие которых мы контролировали по уровню кортикостерона в крови крыс [7]. В первой фазе стресса, которая предположительно длилась до 6ой недели нашего исследования в эрготропном отделе гипоталамуса возрастала мощность волновой активности в дельта- и бета-диапазонах, что могло указывать на активацию этого отдела мозга [14]. Можно предположить, что течение этой фазы усиление норадренергической нейротрансмиссии, что является следствием функционирования стресс – активирующей системы гипоталамуса, приводило к соответствующим изменениям активности ГАМК – системы и достижению максимальных мощностей указанных волн до 9 ^{ой} недели эксперимента, превышающих аналогичные показатели в контрольной группе животных.

Далее происходило снижение мощности волн всех частотных диапазонов ЭГтГ у крыс стрессовой группы относительно контроля, которое длилось до 15ой недели исследования. Результаты, полученные в группах животных, которым на фоне стресса вводили лечебные препараты, позволяют предположить, что причина снижения мощности электрической активности исследованной зоны гипоталамуса в стрессовой группе крыс могла заключаться в недостаточности возбуждающих влияний на нейроны (например, вследствие истощения медиаторов и снижении потенцирующих норадренергических влияний во второй фазе стресса), что, в свою очередь, приводило и к недостаточности ГАМК-эргических влияний. Можно также предположить, что мобилизация медиаторов из депо пресинаптических нейронов и действие механизмов синаптической саморегуляции приводили к частичному восстановлению величин анализируемых показателей до 15 ^{ой} недели эксперимента.

Вышеизложенные особенности динамики мощностей ЕГтГ можно было наблюдать и в последующий период, в течение которого мощности волн ЭГтГ животных стрессовой группы уменьшилась (показатели 18ой недели), а до 21ой

недели эксперимента возрастали. Однако необходимо отметить, что только мощность тета-волн превысила в этот период значения контрольных величин, причём согласно данным спектральной мощности нарастание его представленности в ЕГтГ крыс стрессовой группы наступало уже с 9ой недели эксперимента. Учитывая научные данные о функциональном значении тета-ритма, который является как коррелятом напряжения, так и показателем перехода деятельности мозга с одного уровня на другой [14, 26], а также данные наших исследований, можно предположить, что в течение указанного периода, происходила существенная модуляция синаптической передачи в исследуемой структуре. Несмотря на то, что эрготропная зона гипоталамуса не является источником тета-волн [14], очевидно, факт её появления и нарастания мощности к концу эксперимента может служить показателем изменения функциональной активности исследуемой структуры от более высоко уровня (в начале эксперимента) к меньшему (в конце эксперимента).

ВЫВОДЫ

1. Основным показателем модуляции норадренергических влияний на нейроны эрготропной зоны гипоталамуса наркотизированных крыс было снижение мощностей волн различных частотных диапазонов ЭГтГ в течение 6^{ти} недель эксперимента.
2. Модуляция норадренергической нейротрансмиссии при использовании лечебных препаратов приводила к существенному возрастанию мощностей волн различных частотных диапазонов ЭГтГ к 9ой неделе эксперимента, что было вызвано активацией ГАМК-системы на фоне действия механизмов саморегуляции, служащих для нормализации проведения возбуждения в синапсах.
3. Динамика мощности суммарной фоновой электрической активности эрготропной зоны гипоталамуса при длительном стрессе и её изменения относительно динамики анализируемого показателя в контрольной группе животных, в определённой мере могут быть обусловлены состоянием нейротрансмиссии в норадренергической и ГАМК-эргической системах мозга.
4. Изменения фоновой суммарной электрической активности эрготропной зоны гипоталамуса могут отражать модуляцию её функциональной активности в течение длительного стресса при переходе от одной фазы стресс-реакции организма к другой.

Список литературы

1. Пшенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологи / М. Г. Пшенникова // Пат. физиология и эксперим. Терапия. – 2000. – № 2. – С. 24-31.
2. Никонов В. В. Стресс. Современный патофизиологический подход к лечению / В. В. Никонов – Харків: Консул, 2002. – 234 с.
3. Ведяев Ф.П. Модели и механизмы эмоциональных стрессов / Ф. П. Ведяев, Т. М. Воробьёва – К.: Здоров'я, 1983. – 135 с.
4. Парин С. Б. Особенности преобразования информации при стрессе и шоке / С. Б. Парин, С. А. Полевая. - Нижний Новгород: НГУ, 2006. – С. 165-171 - (Нейроинформатика, ч.1).
5. Вейн А. М. Вегетативные расстройства (клиника, диагностика, лечение) – Москва: МИА, 1998.

6. Ляшенко В. П. Влияние стресового фактора на динамику изменения уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс / В. П. Ляшенко, Е. А. Никифорова, М. А. Бойко // Вісник ДДУ ”Біологія. Екологія”. – 2002.– №2, вип. 10. – С. 32-36.
7. Ляшенко В. П. Особливості співвідношення кортизолу та тестостерону в сироватці крові щурів за умов специфічного навантаження / В. П. Ляшенко, О. А. Никифорова // Медична хімія. – 2004. – № 3. – С. 141-142.
8. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы / Дж. Теппермен, Х. Теппермен - Мир: Москва, 1989. – С. 397-430.
9. Динаміка характеристик електричної активності трофо- та ерготропної зон гіпоталамуса щурів у перебігу довготривалого емоційного стресу / В. П. Ляшенко, О. З. Мельникова, А. В. Горковенко [та ін.] // Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2007. – Т. 39, № 1. – С. 69-80.
10. Могилевский А.Я. Гипоталамус: активация мозга и сенсорные процессы / А. Я. Могилевский, Д.А. Романов. – Киев: Наукова думка, 1989. – 213 с.
11. Черный С. В. Тревожность, её ЭЭГ-корелляты и возможные механизмы /С. В. Черный, В. Б. Павленко // Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия „Биология, химия”. – 2004. Т. 17(56), №1. – С. 89-98.
12. Черный С. В. Отражение внутренних переживаний в характеристиках текущей ЭЭГ /С.В. Черный, А.А. Коваленко // Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия „Биология, химия”/ – 2005. – Т. 18(57), №3. – С. 191-197.
13. Колотилова О. И. Взаимосвязь активности нейронов моноаминергических систем головного мозга и ритмов электроэнцефалограммы у кошки /О. И. Колотилова, В. Б. Павленко, И. И. Коренюк [и др.] //Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия “Биология, химия”. – 2005. - 18(57), №1. – С. 131-137.
14. Воробьёва Т. М. Электрическая активность мозга (природа, механизмы, функциональное значение / Т. М. Воробьёва, С. П. Колядко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2007. - № 2. - С. 4-11.
15. Александров А. Ю. Нейрон. Обработка сигналов. Пластичность. Моделирование. / А. Ю. Александров, К. В. Анохин, Б. Н. Безденежных [и др.]. – Тюмень: ТГУ, 2008. – С. 12-60, 94-247.
16. Шеверева В. М. Особенности формирования и обратимости эмоциональных нарушений у крыс при нейрогенном стрес се / В.М. Шеверева //Нейрофизиология. – 2003. – 35, № 2. – С. 147 -158.
17. Калуев А. В. О роли ГАМК в патогенезе тревоги и депресии /А. В. Калуев, Д. Дж. Натт // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – 67, №4. – С. 71-76.
18. Пшенникова М. Г. Врождённая эффективность стресс-лимитирующих систем как фактор устойчивости к стрессорным повреждениям / М. Г. Пшенникова // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34, №3. – С. 55-67.
19. Мамонтов С. М. Вплив модуляції ГАМК- та норадренергічної передачі на імпульсну активність нейронів моторної кори кота, пов'язану з виконанням оперантного рефлексу на дії двох подразників / С.М. Мамонтов, Б.І. Бусель //Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2007. – Т. 39, №1. – С. 62-68.
20. Парин С.Б. Преобразование информации в синапсе / С. Б. Парин, С. А. Полевая. – Нижний Новгород: НГУ, 2006. – С. 112 – 115. - (Нейронные сети, ч.1).
21. Семьянов А.В. ГАМК-эргическое торможение в ЦНС: типы ГАМК-рецепторов и механизмы тонического ГАМК-опосредованного действия / А. В.Семьянов // Нейрофизиология/Neurophysiology. – 2002. Т. 34, № 1. – С. 82-92.
22. Воробьева О.В. Стресс и депрессия / О. В. Воробьева // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2007. Т. 9, N 4. – С. 21-24.
23. Харкевич Д. А. Фармакология / Д. А. Харкевич. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. – С. 157 - 239.
24. Машковский М. Д. Психотропные препараты. Противосудорожные препараты / М. Д. Машковский – М.: Медицина, 1988. – С. 36-155. - (Лекарственные средства, Т.1).
25. Пат. 43978А. Україна 7G09B23/28. Спосіб моделювання атеросклерозу / В. П. Ляшенко, С. М. Лукашов, Ж. В. Зорова, В. І. Політаєва; заявник і патентоволодар Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара. – опубл. 15.01.02. Промислова всласність. – 2002. – Бюл.№1.- С.4-81.
26. Стереотаксический атлас мозга крыс (фронтальные сечения) / Электронная версия изготовлена под ред. проф. А. Ю. Буданцева. – Пущино, из-во „Аналитическая микроскопия”, 2002. – С. 7-15.

27. Зенков Л. Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии) /Л. Р. Зенков – М.: МЕДпресс-информ, 2001. – 368 с

Мельнікова О.З., Ляшенко В.П **Дослідження медіаторних механізмів модуляції за умов довготривалого стресу фонової сумарної електричної активності ерготропної зони гіпоталамуса щурів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2 – С. 92-102.

Досліджували динаміку взаємодії норадренергічної и ГАМК-ергічної медіаторних систем протягом довготривалого стресу, аналізуючи викликані ним зміни потужностей хвиль фонової сумарної електричної активності ерготропної зони гіпоталамуса наркотизованих щурів. Електрографічні прояви активності вказаних систем були отримані за допомогою застосування на тлі стресової ситуації модуляторів центральної нейротрансмісії – амітриптиліна, аміназина, карбамазепіна.

***Ключові слова*:** довготривалий стрес, біоелектрична активність, гіпоталамус, норадренергічна система, ГАМК-ергічна система.

Melnikova O.Z., Lyashenko V.P. **Researches of mediator mechanisms of modulation at the terms of long duration stress of background total electric activity of ergotropic area of hypothalamus of rats //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 92-102.

Investigated the dynamics of cooperation of noradrenergic and GABA-ergic mediator systems during of long duration stress, analyzing caused by him the changes of wave powers of ergotropic hypothalamic area background total electric activity in narcotized rats. The electrographic displays of the indicated systems' activity were got by application on a background a stress situation of central neurotransmission modulators – amitriptilin, aminazin, carbamazepin

***Keywords*:** long duration stress, bioelectric activity, hypothalamus, noradrenergic system, GABA-ergic system.

Поступила в редакцию 12.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С.103-109.

УДК 577.112.4:598/599

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРИНСУЛИНЕМИИ НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Никольская В.А., Рубановская Т.В.

Методом определения окислительной модификации белков в тканях печени, мозга и сердца установлено, что состояние экспериментальной гиперинсулинемии приводит к активации окислительных процессов и деструкции белков изученных тканей с образованием продуктов окислительной модификации аминокислотных остатков (альдегидных и кетонных продуктов нейтрального и основного характера). Купирование гиперинсулинемии глюкозой позволяет снизить показатели окисленных продуктов.

Ключевые слова: гиперинсулинемия, гипогликемия, окислительная модификация белков.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение биохимического аспекта влияния на организм гиперинсулинемического состояния, проявляющегося гипогликемическим симптомокомплексом, является несомненно актуальным в связи с тем, что его проявление достаточно часто встречается в лечебной практике; кроме того искусственно вызванная гиперинсулинемия применяется в лечении психических расстройств. Гиперинсулинемическое состояние может быть вызвано различными причинами [1, 2] и обусловлено абсолютным или относительным повышением уровня инсулина. При этом особую значимость имеют гипогликемии у больных сахарным диабетом, развивающиеся на фоне инсулинотерапии, реже при лечении сахароснижающими сульфаниламидными препаратами, что в свою очередь может вызывать диагностические ошибки и трудности [2].

Инсулин усиливает транспорт гексоз и аминокислот через цитолемму клеток тканей, снижая их уровень в крови, синтез гликогена, белков и липосинтез [1]. В то же время инсулин предохраняет гексозофосфаты от расщепления, тормозит глюконеогенез и липолиз. Снижение глюкозы крови под воздействием избыточной секреции инсулина (например, в случае опухоли островковых клеток Лангерганса, врожденной гиперинсулинемии) либо введении больших доз инсулина может привести к гипогликемии [3].

В процессе метаболизма в клетках аэробных организмов постоянно образуются активные формы кислорода (АФК), которые при избыточной их продукции либо при нарушении работы защитных систем могут оказывать токсическое действие и приводить к окислительной модификации фактически всех аминокислот, вызывая деградацию очищенных белков, белков интактных клеток и интрацеллюлярных

органелл [4, 5], к разрушению структуры мембран клеток и, как следствие, к окислительному повреждению тканей и органов [4, 6]. Накопление продуктов свободнорадикального окисления ведет к истощению антиоксидантной системы, снижению содержания восстановленного глутатиона и активности супероксиддисмутазы и каталазы. Одним из серьезных нарушений энергетического обмена при усилении свободнорадикального окисления является разобщение дыхания и фосфолирирования, а следовательно, и ослабление биосинтеза макроэргических соединений, особенно АТФ. Это, в свою очередь, затормаживает процессы биосинтеза белков, нуклеиновых кислот и других соединений, а также нарушает функции организма [7, 8].

В связи с этим, целью данной работы было исследование влияния экспериментальной гиперинсулинемии на процессы окислительной модификации белков тканей органов лабораторных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты выполнены на 100 лабораторных белых крысах–самцах (Rattus norvegicus) массой 180 – 200 г. Все животные содержались в обычных условиях вивария на стандартном пищевом рационе. Материалом служили ткани печени, сердца и мозга следующих групп лабораторных крыс: контрольной; группы в состоянии выраженной гиперинсулинемии (опытная группа №1); группы в состоянии гипогликемии с последующим купированием глюкозой (опытная группа №2). Экспериментальную гиперинсулинемию получали по схеме, описанной ранее. Опытным крысам натощак подкожно вводили по 3,5 Ед инсулина. После появления судорог, развития гипогликемической комы, часть животных декапитировали. Остальным крысам для купирования комы вводили внутрибрюшинно по 3,5 мл 20% раствора глюкозы. После исчезновения признаков гиперинсулинемии животных декапитировали. Контрольные животные получали в таком же объеме физиологический раствор.

Из печени, сердца и мозга получали гомогенаты тканей [9], которые хранили не более недели. Полученные гомогенаты использовали для проведения методики определения белков, подверженных окислительной модификации.

Для анализа использовали 0,1 мг гомогената тканей крыс. Осаждение белков гомогената осуществляли с помощью 20% раствора трихлоруксусной кислоты. Далее использовали метод Е.Е. Дубининой, С.О. Бурмистрова, Д.А. Ходова, И.Г.Поротова [10] для определения окислительной модификации белков сыворотки крови. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали при длинах волн: 346 и 370 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации нейтрального характера), а также при 430 нм и 530 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации основного характера). Степень окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на 1 мг ткани (е.о.п./мг).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, о том, что воздействие инсулинового шока приводит к увеличению степени окислительной модификации белков: содержания альдегид – динитрофенилгидразонов и кетон – динитрофенилгидразонов как нейтрального, так и основного характера в исследуемых тканях опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контрольной (табл. 1, 2, 3).

Перегрузка дыхательной цепи митохондрий при активном гликолизе приводит к тому, что молекула кислорода способна присоединять один электрон, образуя супероксиданион – радикал $\bullet O_2^-$. В этих условиях супероксиданион – радикал претерпевает превращения, приводящие к образованию других высокореакционных радикалов, которые могут причинить прямой вред клетке: $\bullet O_2^-$, H_2O_2, $OH^\bullet$ [7, 8]. Утилизация глюкозы крови при воздействии избыточных доз инсулина способствует снижению процессов гликолиза и ослаблению биосинтеза АТФ. При адаптации организма к стрессовым ситуациям для быстрого образования и получения АТФ имеют место более короткие пути тканевого дыхания: отщепившиеся в процессе окисления в цикле Кребса атомы водорода переносятся на флавиновые ферменты электронотранспортной цепи митохондрий, минуя систему никотинамидных ферментов, при этом образуется всего две молекулы АТФ вместо трех. Более коротким путем быстрого получения АТФ является перенос атомов водорода с окисляемых субстратов с помощью флавиновых ферментов непосредственно на молекулярный кислород, минуя систему цитохромов. Конечным продуктом окисления в этих случаях будет не вода, а пероксид водорода [8]. Повышение скорости образования свободных радикалов нарушает работу антиоксидантных систем (АО), а следовательно, ведет к накоплению АФК, избыточная продукция которых оказывает токсическое действие и приводит к окислительному повреждению тканей и органов [4, 6].

Таблица 1.

Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в ткани печени лабораторных крыс, е.о.п./мг ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Эксперимен-тальные группы	n	Длина волны, нм			
		346	370	430	530
Контрольная группа	30	0,041±0,002	0,053±0,001	0,022±0,002	0,008±0,001
Опытная группа №1	30	0,051±0,006*	0,060±0,001*	0,030±0,001*	0,011±0,001*
Опытная группа №2	30	0,050±0,001*	0,059±0,001*	0,030±0,001*	0,011±0,001*

Примечание: * – достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой ($p<0,01$).

После введения избыточных доз инсулина в ткани печени (табл. 1) наблюдается достоверное увеличение содержания альдегидных продуктов нейтрального характера на 24% (λ=346 нм), кетонных продуктов нейтрального характера – на 13% (λ=370 нм), продуктов окислительной модификации аминокислотных остатков основного характера – на 36% (λ=430 и 530 нм).

После введения глюкозы достоверных изменений показателя окислительной модификации белков в ткани печени крыс не показано.

В ткани головного мозга (табл. 2) после введения избыточных доз инсулина содержание окислительных продуктов нейтрального характера возрастает в 1,4 раза, альдегидных продуктов основного характера (λ=430 нм) – в 2 раза, кетонных продуктов основного характера (λ=530 нм) – в 5 раз.

Таблица 2.

Содержание 2,4 – динитрофенилгидразонов в ткани головного мозга лабораторных крыс, е.о.п./мг ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Эксперимен-тальные группы	n	Длина волны, нм			
		346	370	430	530
Контрольная группа	30	0,037±0,001	0,039±0,001	0,015±0,002	0,010±0,001
Опытная группа №1	30	0,051±0,001*	0,054±0,001*	0,031±0,002*	0,051±0,002*
Опытная группа №2	30	0,048±0,001*, **	0,050±0,001*, **	0,030±0,002*	0,050±0,001*

Примечание: * – достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой (p<0,01); ** – достоверность различий показателей опытной группы №2 по сравнению с опытной группой №1 (p<0,01).

После введения глюкозы достоверно снижается на 30% содержание альдегидных (λ=346 нм) и кетонных (λ=370 нм) продуктов окислительной модификации нейтрального характера, большая часть которых может быть продуктами окислительной модификации гидрофобных аминокислотных остатков. Возможно, полученные результаты являются подтверждением того, что окислительную модификацию претерпевают аминокислотные остатки не только в поверхностных слоях, но и в более глубоких участках белковых молекул ткани, где они также подвержены окислительной деградации при воздействии АФК [4].

Фактором, усиливающим окислительный стресс в ткани головного мозга, является закисление среды, вызванное происходящей при гипоксии активацией гликолиза. При этом образование АТФ уменьшается [7]. Поэтому после введения глюкозы и восстановления кровообращения появляющийся в тканях кислород взаимодействует с промежуточными компонентами дыхательной цепи, убихинонами, которые обладают к нему более высоким сродством. Такое взаимодействие происходит по одноэлектронному пути и заканчивается образованием супероксиданион-радикала [7]. В результате этого купирование

гипогликемии глюкозой в ткани головного мозга не привело к снижению показателей окислительной модификации белков.

Таблица 3.

Содержание 2,4–динитрофенилгидразонов в ткани сердца лабораторных крыс, е.о.п./мг ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Экспериментальные группы	n	Длина волны, нм			
		346	370	430	530
Контрольная группа	30	0,020±0,001	0,021±0,002	0,011±0,002	0,010±0,001
Опытная группа №1	30	0,040±0,002*	0,050±0,003*	0,030±0,002*	0,024±0,001*
Опытная группа №2	30	0,030±0,002*, **	0,025±0,002*, **	0,020±0,002*, **	0,010±0,001**

Примечание: * – достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой (p<0,01); ** – достоверность различий показателей опытной группы №2 по сравнению с опытной группой №1 (p<0,01).

В ткани сердца лабораторных крыс (табл. 3) после введения избыточных доз инсулина содержание продуктов окислительной модификации белков по сравнению с контрольной группой возрастает почти в 2 – 2,5 раза при всех длинах волн, регистрирующих данные соединения (рис. 1).

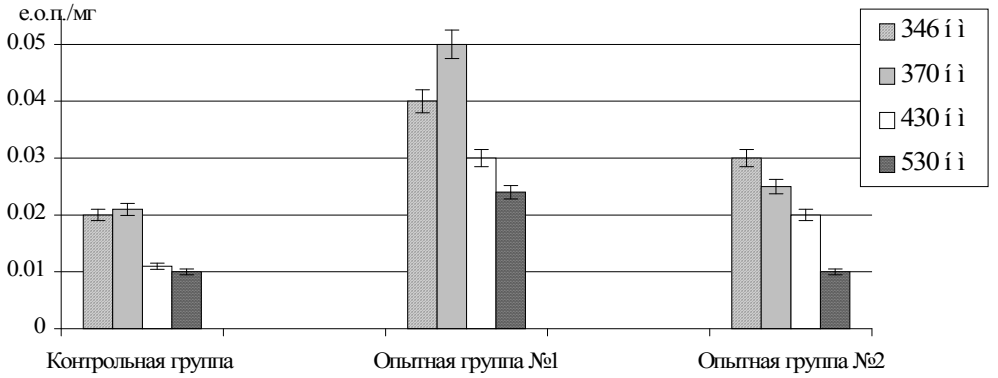


Рис. 1. Содержание продуктов окислительной модификации белков в ткани сердца лабораторных крыс контрольной и опытной групп.

После купирования комы глюкозой в ткани сердца опытной группы №2 наблюдается достоверное снижение содержания продуктов окислительной модификации белков: альдегидных – в 1,5 раза, кетонных – в 2 раза по сравнению с показателем опытной группы №1.

Снижение изученных показателей в ткани сердца могут являться отражением на биохимическом уровне сопряжения состояния данного органа и изменений концентрации глюкозы в постоянной циркулирующей крови [8].

Результаты исследований позволяют предположить, что изменения показателя окислительной модификации белков в тканях лабораторных крыс могут быть обусловлены резким снижением содержания углеводов под воздействием экспериментальной гиперинсулинемии, что приводит к уменьшению скорости гликолитических процессов, ослаблению биосинтеза АТФ с последующей интенсификацией окислительных реакций

ВЫВОДЫ

1. В условиях гиперинсулинемии в ткани печени лабораторных крыс происходит достоверное увеличение содержания продуктов окислительной модификации белков нейтрального характера на 24% (λ=346 нм) и 13% (λ=370 нм), основного характера – на 36% (λ=430 и 530 нм).
2. Показано, что в ткани головного мозга лабораторных крыс в условиях гиперинсулинемии уровень продуктов окислительной модификации белков нейтрального характера повышается в 1,4 раза, основного характера – в 2 – 5 раз, в ткани сердца наблюдается достоверное увеличение содержания продуктов окислительной модификации белков в 2 – 2,5 раза.
3. Выявлено, что после гипогликемического шока в ткани печени лабораторных крыс изменений показателя окислительной модификации белков не наблюдается.
4. После купирования гипогликемического шока глюкозой в ткани головного мозга лабораторных крыс выявлено достоверное уменьшение показателя окислительной модификации белков нейтрального характера на 30%, тогда как изменения показателя окислительной модификации белков основного характера не наблюдается.
5. Показано, что после введения глюкозы лабораторным крысам, находящимся в состоянии искусственно вызванной гиперинсулинемии, содержание продуктов окислительной модификации белков в ткани сердца уменьшается в 1,3 – 2,4 раза относительно контрольной группы.

Список литературы

1. Ефимов А. С. Эндокринология / Ефимов А. С., Боднар П. Н., Зелинский Б. А. – К.: Вища школа, 1983. – С. 171 – 173.
2. Ефимов А. С. Неотложная эндокринология / Ефимов А. С., Комисаренко И. В., Скробонская Н. А. – М.: Медицина, 1982. – 36 с.
3. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс / Дж. Теппермен, Х. Теппермен; пер. с англ. В. И. Кандрора – М.: Мир, 1989. – 656 с.
4. Дубинина Е. Окислительная модификация белков / Елена Дубинина, Владимир Шугалей // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, Вып. 1. – С. 71 – 81.
5. Зенков Н. К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б. – М.: МАИК, 2001. – 343 с.

6. Зайцев В. Г. Активные формы кислорода (синопсис) / В. Г. Зайцев // Успехи современной биологии. – 2004. – Вып. 2. – С. 69 – 75.
7. Болдарев А. Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге / Александр Болдарев, Михаил Куклей // Нейрохимия. – 1996. – №13. – С. 271 – 278.
8. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в клетке / Ю. А. Владимиров // Природа. – 1997. – №4. – С. 47 – 54.
9. Кутлубаев М. А. Свободнорадикальное окисление и его регуляция психотропными препаратами в условиях хронического стресса (клинико-экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук: спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / М. А. Кутлубаев. – Омск, 2007. – 22 с.
10. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, Вып. 1. – С. 24 – 25.
11. Дурнев А. Д. Мутагены. Скрининг и фармакологическая профилактика воздействия / А. Дурнев, С. Середенин. – М.: Медицина, 1998. – 328 с.

Нікольська В. О., Рубановська Т. В. **Вплив експериментальної гіперінсулінемії на процеси окисної модифікації білків у тканинах лабораторних щурів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2 – С. 103-109.

Методом визначення окисної модифікації білків у тканинах печінки, мозку і серця встановлено, що стан експериментальної гіперінсулінемії приводить до активації окисних процесів і деструкції білків вивчених тканин з утворенням продуктів окисної модифікації амінокислотних залишків (альдегідних і кетонных продуктів нейтрального й основного характеру). Купірування гіперінсулінемії глюкозою дозволяє знизити показники окислених продуктів.

Ключові слова: гіперінсулінемія, гіпоглікемія, окисна модифікація білків.

Nikolskaya V.A., *Rubanovskaya T. V.* **Influence experimental hyperinsulinemia on processes of oxidative modifications of proteins in tissue laboratory rats** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 103-109.

By method of definition of oxidative modifications of proteins in tissue of a liver, a brain and heart it is established, that the state experimental hyperinsulinemia leads to activation of oxidative processes and destruction proteins of the studied tissue with formation of products of oxidative modifications aminoacids the residual (aldehydic and ketonic products of neutral and basic character). Knocking over hypoglycaemia glucose allows to lower indicators of the oxidised products.

Keywords: hyperinsulinemia, hypoglycaemia, oxidative modifications of proteins.

Поступила в редакцию 12.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 110-120.

УДК 615.281:547.455

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ

Отурина И.П., Емельянова А.А., Курьянов В.О.

Исследована динамика чувствительности штаммов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, выделенных от людей в г. Симферополе, к антибиотикам и синтетическим препаратам из разных классов органических соединений с использованием метода диффузии в агар. Установлено, что эффективность действия препаратов зависит от наличия в их молекулах активных радикалов, концентрации и видовых особенностей микроорганизмов.

Ключевые слова: чувствительность, бактерии, антибиотики, антимикробные препараты, активные радикалы

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время основным методом борьбы с патогенными и условно-патогенными бактериями – возбудителями инфекционных заболеваний является использование различных групп химиопрепаратов с выраженной антибактериальной активностью, наиболее эффективными из которых по-прежнему остаются природные антибиотики и их синтетические аналоги [1]. К сожалению, повсеместно применяемая антибиотикотерапия имеет ряд негативных последствий, одно из которых проявляется в формировании резистентности микроорганизмов к еще недавно успешно применяемым лекарственным средствам. Появились штаммы патогенных бактерий, одновременно устойчивые к нескольким антибиотикам, т.е. обладающие множественной резистентностью [2, 3]. В связи с этим необходимость поиска новых антимикробных средств, обладающих выраженным бактерицидным либо бактриостатическим эффектом, приобрела особую актуальность. При разработке и получении химиотерапевтических препаратов новых поколений перспективным является химическая модификация различных органических соединений с защищенными от воздействия бактериальных энзимов активными радикалами, что позволяет расширить спектр их действия для решения проблемы резистентности.

Целью данной работы явилось изучение уровня антимикробной активности новых синтетических химиопрепаратов в отношении штаммов золотистого стафилококка и кишечной палочки как наиболее характерных представителей грамположительных и грамотрицательных бактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе исследования был испытан ряд новых синтетических препаратов различной химической природы с предполагаемыми антимикробными свойствами, полученных путем химического синтеза на кафедре органической химии

Таврического национального университета им. В.И. Вернадского: оксадиазолы (М007-М09, М011, М016, М017, М045), салицилаты (М026), аминокислоты (М032, М034), гликозиды (М022, М024, М027-М029, М057, М080, М103, М109-111, М114, М123, М125), хинолоны (М023, М023А) изатины (М054, М071-М076), оксоиндолы (М120) и триазолы (М100, М129).

В качестве тест-объектов были выбраны типичные представители $Г^+$ и $Г^–$ бактерий – *Staphylococcus aureus* (стафилококк золотистый) и *Escherichia coli* (кишечная палочка), выделенные от людей на базе бактериологической лаборатории 7-ой городской больницы г. Симферополя в 2007-2008 гг..

Предварительно с использованием бактериоскопических, культуральных и биохимических методов изучались биологические свойства *St. aureus* и *E. coli*. Степень чувствительности тест-объектов к традиционным антибиотиками определялась с помощью дискодиффузного метода путем сравнения диаметров зон задержки роста (ДЗЗР) вокруг бумажных дисков, пропитанных исследуемыми растворами определенных концентраций, со стандартными значениями для каждого лекарственного препарата (табл. 1) [4].

Таблица 1.

Стандартные показатели ДЗЗР микроорганизмов к антибиотикам при использовании дискодиффузного метода [5]

№	Антибиотики	ДЗЗР, мм		
		R	I	S
1.	Амикацин (AM)	≤14	15-16	≥17
2.	Ампициллин (AMP) для $Г^–$	≤10	11-16	≥17
	Ампициллин (AMP) для $Г^+$	≤20	21-28	≥29
3.	Ванкомицин (VAN) для $Г^–$	≤ 14	15-16	≥17
	Ванкомицин (VAN) для $Г^+$	≤ 11	–	≥12
4	Гентамицин (GEN)	≤13	14-15	≥16
5.	Имипенем (IM)	≤13	14-15	≥16
6.	Канамицин (CAN)	≤14	15-18	≥19
7.	Клиндамицин (KL)	≤14	15-20	≥21
8.	Левомицетин (LEV)	≤15	16-18	≥19
9.	Линкомицин (LIN)	≤19	20-23	≥24
10.	Норфлоксацин (NOR)	≤12	13-16	≥17
11.	Оксациллин (Ox)	≤15	16-19	≥20
12.	Пенициллин (PE) для $Г^–$	≤10	11-16	≥17
	Пенициллин (PE) для $Г^+$	≤20	21-28	≥29
13.	Фурагин (FR)	≤15	16-18	≥19
14.	Цефазолин (CZ)	≤14	15-18	≥19
15.	Цефалексин (CH)	≤14	15-18	≥19
16.	Цефалотин (CFT)	≤14	15-18	≥19
17.	Цефуроксим ((COM)	≤14	15-18	≥19
18.	Ципрофлоксацин (CIP)	≤15	16-20	≥21
19.	Эритромицин (ERY)	≤17	18-21	≥22

Условные обозначения: R – устойчивые; S – чувствительные; I - умеренно чувствительные штаммы

Наличие бактериостатического эффекта новых препаратов также оценивалось методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков, пропитанных растворами испытуемых препаратов в концентрациях 2,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 и 30,0 и 50,0 мг/л. В качестве растворителя синтетических препаратов использовался диметилсульфоксид (ДМСО). Диски помещали в чашки Петри на поверхность агаризованной питательной среды АГВ (сухой питательный рыбный бульон, агар, крахмал, Na_2HPO_4; pH 7,4 ± 0,2), в которые предварительно методом сплошного газона были высеяны *St. aureus* и *E. coli*. Культуры инкубировались в течение суток в термостате при 37^0 С.

Опыт проводился в 10 повторностях. Полученные результаты обрабатывались статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Предварительная микробиологическая оценка свойств тестовых микроорганизмов показала, что исследуемые штаммы *St. aureus* и *E. coli,* обладая типичными для данных видов морфолого-культуральными и биохимическими свойствами, проявили выраженную чувствительность к гентамицину, оксациллину, а также к β-лактамным антибиотикам цефалоспоринового ряда – цефазолину, цефуроксиму и ципрофлоксацину. Антибиотики клиндамицин, линкомицин, левомицетин, норфлоксацин, цефалексин и цефалотин подавляли рост только стафилококка золотистого; к амикацину, имипенему и фурагину была чувствительна лишь кишечная палочка. Высокая степень устойчивости штаммов *St. aureus* и *E. coli* отмечена к ванкомицину и пенициллину, а также к ампициллину, канамицину и эритромицину (табл. 2).

Механизм действия многих антибиотиков изучен довольно глубоко. Так, антибактериальный эффект всех препаратов группы пенициллинов (ампициллин, оксациллин и др.) связан с нарушением синтеза компонентов клеточной стенки за счет блокирования реакции транспептидирования при синтезе пептидогликана (муреина). Макролиды эритромицин и олеандомицин, продуцируемые определенными видами актиномицетов, а также линкозамиды линкомицин и клиндомицин – антибиотики, обладающие бактериостатическим действием, основанном на их способности взаимодействовать с субъединицей рибосомы 50S, в результате чего нарушается синтеза белка. Механизм антибактериального действия левомицетина состоит в подавлении пептидилтрансферазной реакции с 50S субъединицей рибосомы, что также тормозит биосинтез белка в бактериальной клетке. Гентамицин, амикацин, канамицин относятся к аминогликозидным антибиотикам, блокирующим субъединицу рибосомы 30S и нарушающим считывание генетического кода антикодонами тРНК. Имипенем, цефтриаксон, цефтазидим – цефалоспорины, механизм действия которых аналогичен пенициллинам [6]. Офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин – фторхинолоны, нарушающие синтез ДНК и РНК за счет образования комплексов с нуклеиновыми кислотами, а также ингибирования жизненно важного фермента микробной клетки ДНК–гиразы [7].

Таблица 2.

Антибиотикочувствительность *St. aureus* и *E. coli* (2007-2008 гг.)

Антибиотик	Содержание антибиотика в диске, мкг	*St. aureus*		*E. coli*	
		ДЗЗР, мм	Степень чувствительности	ДЗЗР, мм	Степень чувствительности
Амикацин	30	14,2±0,1	R	18,7±0,2	S
Ампициллин	10	27,1±0,4	I	20,9±0,4	R
Ванкомицин	10	10,1±0,7	R	0	R
Гентамицин	10	20,5±0,5	S	22,0±0,7	S
Имипенем	15	0	R	25,3±0,2	S
Канамицин	30	19,0±0,1	I	15,0±0,2	R
Клиндамицин	10	22,3±0,4	S	0	R
Левомицетин	30	21,4±0,1	S	11,3±0,6	R
Линкомицин	15	24,9±0,3	S	19,1±0,5	R
Норфлоксацин	10	18,5±0,3	S	–	–
Оксациллин	10	19,0±0,2	S	21,5±0,1	S
Пенициллин	6	12,9±0,3	R	0	R
Фурагин	300	–	–	24,5±0,3	S
Цефазолин	30	29,2±0,5	S	22,8±0,8	S
Цефалексин	30	20,5±0,7	S	15,7±0,2	I
Цефалотин	20	25,6±0,1	S	–	–
Цефуроксим	30	24,3±0,2	S	19,4±0,4	S
Ципрофлоксацин	5	30,1±0,7	S	34,0±0,1	S
Эритромицин	15	16,2±0,1	I	15,3±0,5	R

Таким образом, представители фирмакутных ($Г^+$) и грациликутных ($Г^–$) бактерий по-разному реагируют на присутствие в среде одного и того же лекарственного препарата, поскольку среди факторов, определяющих устойчивость и чувствительность бактерий к антибиотикам, важное значение имеют не только структура антибиотика, но и особенности химического состава клеточной стенки бактерий. Известно, что основным различием между $Г^+$ и $Г^–$ бактерий является присутствие в клеточной стенке последних липополисахаридов, которые препятствуют проникновению препаратов в клетку. Лишь некоторые соединения «комплементарны» с клеточной стенкой и могут беспрепятственно проникать в бактерии, что связано с наличием специфических хеморецепторов, с которым контактируют химические агенты. Молекулы биологически активных веществ содержат, как правило, 2 участка, взаимодействующих с рецептором: «жесткий» участок, служащий для их узнавания рецепторами (обычно это – ароматическое кольцо или система конденсированных колец), и «гибкий» участок (активный радикал), осуществляющий тонкую подстройку под структуру рецептора. Однако наличие активного радикала, повышающего физиологическую активность препарата, не дает абсолютной гарантии того, что антибиотик будет действовать и на $Г^+$, и на $Г^–$ бактерии. В проведенных экспериментах многие препараты обладали

специфической активностью в отношении только одного вида микроорганизма, следовательно, радикалы этих соединений комплементарны с рецепторами только $Г^+$ или только $Г^-$ бактерий.

Подавляющая часть антимиробных препаратов представляют собой сложные органические вещества, полученные путем многоступенчатого микробиологического и химического синтеза [8]. Среди соединений, обладающих определенным уровнем антибактериальной активности, особое внимание привлекают 2-пиразолины, 1,3,4-оксадиазолы, гликозиды, салицилаты, хинолины, аминокислоты (гликопептиды), изатины, оксоиндолы и триазолы [9]. Известно, что оксадиазолы как представители группы пенициллинов оказывают бактерицидное действие на микроорганизмы, находящиеся в логарифмической фазе роста [10]. Это связано с их способностью ингибировать биосинтез компонентов клеточной стенки бактериальной клетки, в регуляции которого принимает участие специфический энзим – транспептидаза. Благодаря структурному сходству пенициллинов с пептидным субстратом фермента, антибиотик конкурирует с ним за активный центр транспептидазы. Взаимодействие молекулы антибиотика с активным центром энзима является необратимой реакцией. Действие азолов на бактериальную клетку также связано с прямым влиянием на синтез компонентов клеточной стенки. Хинолоны относят к ингибиторам синтеза нуклеиновых кислот. Их антимикробное действие сводится к торможению ДНК-гиразы (топоизомеразы II). Этот фермент выполняет строго определенные функции в процессе формирования пространственной структуры молекулы ДНК при ее репликации. Ингибирование данного фермента приводит к нарушению роста и деления бактериальной клетки и, как следствие, ее гибели. Гликозиды относятся к ингибиторам синтеза белка, главным образом воздействуя на рибосомы бактерий. Эффективность действия веществ этой группы определяется их способностью легко проникать через оболочку клеточной мембраны и денатурировать белок цитоплазмы, что сопровождается нарушением метаболизма микробов. Одним из главных эффектов действия гликозидов является диффузия аминокислот, нуклеотидов и ионов калия из бактериальной клетки в окружающую среду [11]. В отличие от пенициллинов, гликозиды активны в отношении не только размножающихся клеток, но и клеток, находящихся в стадии покоя. Салицилаты и аминокислоты являются ингибиторами синтеза белка и нуклеиновых кислот в бактериях. Данные препараты также изменяют физико-химические свойства цитоплазматических мембран клеток.

При большом разнообразии механизмов действия антимикробных веществ прослеживаются общие закономерности их влияния на бактериальную клетку. В присутствии бактериостатической концентрации препарата растущие клетки перестают делиться, резко изменяется их морфология; наблюдается изменение физических свойств бактерий: меняется заряд, электрофоретическая подвижность, окислительно-восстановительный потенциал, ослабляется интенсивность окраски по Граму [12].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что наиболее выраженным антибактериальным эффектом обладали гликозиды и оксадиазолы, меньшую антибактериальную активность проявили хинолоны, аминокислоты и

азолы, самая низкая степень бактериостатического эффекта отмечена у оксоиндолов и салицилатов (табл. 3). Следует отметить, что несмотря на антисептические свойства используемого растворителя диметилсульфоксид (ДМСО), подавления роста испытуемых тест-объектов в контрольном варианте не обнаружено.

1,3,4-Оксадиазолы М007-М009, М011, М013, хинолин М023А, гликозиды М024, М032, М071, М080, М103, М109, М123, изатин М071 подавляли рост как золотистого стафилококка, так и кишечной палочки, что позволяет их отнести к группе веществ широкого спектра активности. Оксадиазол М017, хинолин М023, салицилат М026, гликозиды М022, М057, М110, М125, аминокислота М034, изатин М054, триазол М100 обладали бактериостатическим эффектом только в отношении *St. aureus,* в то время, как гликозиды М027-М029, М111, М114, оксадиазол М045, изатины М072-М074, М076, оксоиндол М120 и триазол М129 проявили антимикробную активность только на штаммах *E. coli*, что свидетельствует об узком спектре действия данных соединений (табл. 3).

Разнообразная химическая природа активных соединений во многом определяет их биологическую активность, в частности, активные радикалы, введенные в ядро молекулы, могут существенно изменять свойства соединения. С общих позиций основу действия любого антимикробного вещества составляет принцип физиологической имитации, согласно которому действие любого препарата на патоген обусловлено соответствием конфигурации молекул этого вещества или его частей с конфигурацией молекул соединений, участвующих в физиологической регуляции процессов, специфичных для возбудителя. Так, оксадиазол М045, имеющий в структуре молекулы фенольный остаток проявил активность только в отношении кишечной палочки. Можно предположить, что фенольный радикал позволяет препарату проникать через тонкую стенку $Г^-$ бактерий, а у $Г^+$ микроорганизмов толстый муреиновый слой препятствует попаданию указанного соединения в клетку. Тем не менее, соединения более сложной структуры, чем М045, хоть и содержали остаток фенола, но не подавляли рост штаммов исследуемых микроорганизмов, поэтому вполне возможно, что и размеры молекул играют определенную роль при контакте лекарственного средства с клеточной стенкой бактерии.

Наиболее выраженный бактриостатический эффект в отношении обоих исследуемых видов микроорганизмов проявил хинолон М023А – производное хинолина (бензопиридина), причем золотистый стафилококк проявил большую чувствительность к этому препарату, чем кишечная палочка. Исследованные хинолоны являются модифицированными аналогами известного лекарственного средства – 8-оксихинолина. Возможно, активность данных веществ определяется не только наличием в их молекуле активного радикала, но и общей структурной организацией молекулы.

Следует отметить, что уровень антимикробной активности М023А имел выраженную зависимость от его концентрации (рис. 1).

Штаммы *St. aureus* и *E. coli* проявили достаточно высокий уровень устойчивости к препаратам из групп аминокислот, оксоиндолов, триазолов и гликозидов, несмотря на присутствие в молекулах последних –ОН-радикалов и

остатков фенолов, определяющих антисептические свойства этой группы лекарственных веществ [13].

Таблица 3.

Чувствительность *St. aureus* и *E. coli* к новым синтетическим препаратам

№	Группа химических соединений	Препарат	Концентрация, мг/мл	ДЗЗР,мм	
				St. aureus ($Г^+$)	*E. coli* ($Г^-$)
1.	Контроль	ДМСО	0	0	0
2.	Оксадиазолы	М007	25	15,6 ± 0,9	11,2 ± 0,5
3.		М008	50	21,8 ± 0,5	15,3 ± 0,5
4.		М009	50	16,8 ± 0,2	12,2 ± 0,2
5.		М011	50	16,2 ± 0,3	17,4 ± 0,1
6.		М013	50	20,1 ± 0,3	21,6 ± 0,2
7.		М017	50	12,7 ± 0,5	0
8.		М045	50	0	11,3 ± 0,4
9.	Салицилаты	М026	50	8,7 ± 0,5	0
10.	Хинолоны	М023	30	21,3 ± 0,1	0
11.		М023А	30	47,8 ± 0,9	44,3 ± 0,6
12.	Аминокислоты	М032	50	10,5 ± 0,7	14,5 ± 0,3
13.		М034	50	9,3 ± 0,4	0
14.	Гликозиды	М022	50	12,3 ± 0,5	0
15.		М024	50	14,3 ± 0,5	11,2 ± 0,3
16.		М024А	60	9,8 ± 0,7	0
17.		М027	50	0	9,5 ± 0,1
18.		М028	50	0	9,3 ± 0,5
19.		М029	50	0	11,0 ± 0,7
20.		М057	30	16,3 ± 0,2	0
21.		М080	30	13,4 ± 0,4	13,9 ± 0,6
22.		М103	50	9,7 ± 0,3	10,1 ± 0,5
23.		М109	50	9,3 ± 0,7	9,0 ± 0,5
24.		М110	50	9,6 ± 0,1	0
25.		М111	50	0	9,8 ± 0,2
26.		М114	50	0	12,3 ± 0,4
27.		М123	50	14,0 ± 0,9	12,9 ± 0,5
28.		М125	50	10,2 ± 0,8	0
29.	Изатины	М054	50	9,3 ± 0,4	0
30.		М071	30	11,5 ± 0,3	13,8 ± 0,5
31.		М072	30	0	12,1 ± 0,7
32.		М073	30	0	11,5 ± 0,3
33.		М074	30	0	11,6 ± 0,2
34.		М076	30	0	12,2 ± 0,3
35.	Оксоиндолы	М120	50	0	11,6 ± 0,5
36.	Триазолы	М100	50	12,4 ± 0,2	0
37.		М129	50	0	10,1 ± 0,3

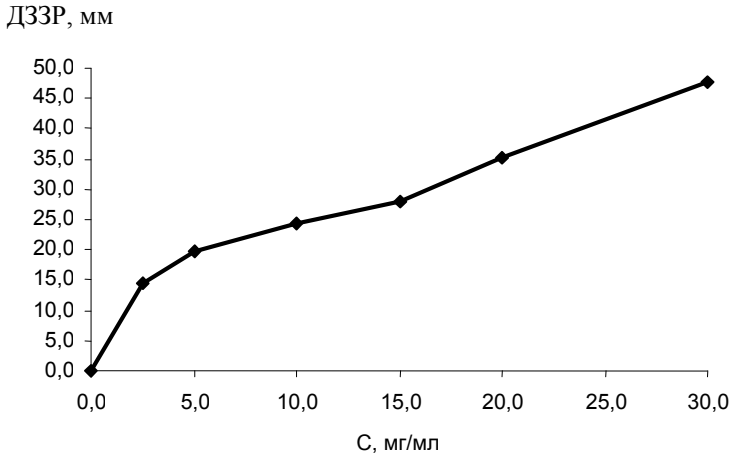


Рис. 1. Концентрационная зависимость бактериостатического эффекта хинолина М023А на штаммах *St. aureus*

В целом, результаты проведенных исследований показали, что несмотря на то, что эффективность испытанных препаратов проверялась при использовании достаточно высоких их концентраций, они обладали гораздо более низким уровнем бактериостатической активности по сравнению с традиционными антибиотиками.

Отличительной особенностью изатинов является наличие в молекуле атомов галогенов (хлора) в качестве активных заместителей, в зависимости от расположения которых изменяются и физиологические свойства веществ [14]. Изатины не имеют аналогов среди огромного количества антибиотиков и поэтому представляют особый интерес для исследований. В ходе проведенных экспериментов установлена связь между химической структурой и биологическим действием этих соединений. Так, изатины М054 и М058 имеют общий план молекулярного строения (рис. 2), отличаясь лишь по степени разветвленности углеродной цепи активных радикалов. Препарат М054 с более разветвленной углеродной цепью, в отличие от М058, не проявившего антимикробную активность, подавлял рост *St. aureus.*

Радикалы изатинов М074 (R: CH_3, $R^{\backprime}$: $–CH_3$) и М075 (R: CH_3, $R^{\backprime}$: $–C_2H_5$), не проявившего бактериостатический эффект, отличаются количеством атомов углерода, что определенным образом повлияло на активность данных соединений (рис. 3).

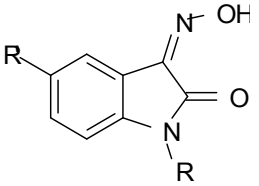


Рис. 2. Общая структурная формула оксимов из группы изатинов:

для M054: R: $–CH_2CH(CH_3)$, R': $–CH_3$; для M058: R: $–(CH_2)_3CH$, R': $–CH_3$

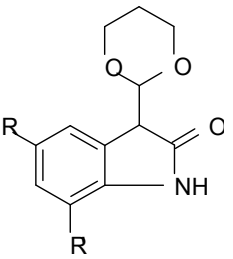


Рис. 3. Общая структурная формула циклических кеталей из группы изатинов

Следует учитывать, что каждый микроорганизм обладает специфической системой защиты от воздействия антибактериальных препаратов, что обусловлено наличием разрушающих их ферментов: β-лактамазы, ацетилтрансферазы, фосфорилазы, нуклеотидазы и др. Данные энзимы могут синтезироваться в клетке независимо от наличия лекарственного средства (как у $Г^-$ бактерий), могут образовываться только в присутствии препарата (как у $Г^+$ микробов, например, стафилококков), поэтому структура молекулы химиопрепарата не должна соответствовать структуре активного центра соответствующего фермента.

Таким образом, действие лекарственного препарата зависит как от входящих в его состав активных радикалов, так и от их расположения и формы сочетания в молекуле. Введение в молекулу различных группировок атомов и изучение действия модифицированных таким образом соединений является основой для создания новых химиопрепаратов, оказывающих желаемый фармакологический эффект.

Усовершенствование методов синтеза химико-фармацевтических соединений, всестороннее изучение закономерностей между их строением и биологической активностью, разработка методов анализа, позволяющих следить за ходом синтеза лекарственного вещества и управлять им так, чтобы получить нужный продукт с высоким выходом и необходимого качества позволят расширить спектр действия новых химиопрепаратов с предполагаемым антибактериальным эффектом.

ВЫВОДЫ

1. Штаммы золотистого стафилококка и кишечной палочки, выделенные в бактериологической лаборатории 7-ой городской больницы г. Симферополя в период с 2007 по 2008 гг. и обладавшие типичными для данных видов морфолого-культуральными и биохимическими свойствами, характерными для бактерий данных видов, проявили выраженную чувствительность к гентамицину, оксациллину, цефазолину, цефуроксиму, цефотаксиму, ципрофлоксацину. Антибиотики клиндамицин, линкомицин, левомицетин, норфлоксацин, цефалотин, цефалексин, подавляли рост только *St. aureus*; амикацин, фурагин, имипенем проявили антимикробное действие только в отношении *E. coli.* Высокая степень устойчивости штаммов *St. aureus* и *E. coli* отмечена к ампициллину, ванкомицину, канамицину, пенициллину, эритромицину.

2. Новые химиопрепараты, полученные в результате химического синтеза на кафедре органической химии ТНУ им. В.И. Вернадского, проявили разный уровень бактериостатического эффекта. Оксадиазолы М007-М009, М011, М013, хинолин М023А, гликозиды М024, М032, М080, М103, М109, М123, изатин М071 подавляли рост как золотистого стафилококка, так и кишечной палочки, что позволяет их отнести к группе веществ широкого спектра активности. Оксадиазол М017, хинолин М023, салицилат М026, гликозиды М022, М057, М110, М125, аминокислота М034, изатин М054, триазол М100 обладали бактериостатическим эффектом только в отношении *St. aureus,* в то время, как гликозиды М027-М029, М111, М114, оксадиазол М045, изатины М072-М074, М076, оксоиндол М120 и триазол М129 проявили антимикробную активность только на штаммах *E. coli*, что свидетельствует об узком спектре действия данных соединений
3. Разная степень устойчивости бактерий к исследуемым препаратам определяется различиями в строении поверхностных структур $Г^+$ и $Г^-$ бактерий, а также наличием в бактериальных клетках комплементарных рецепторов.
4. Действие новых антибактериальных соединений зависит как от входящих в их состав активных радикалов (алкильных группировок в гликозидах, оксадиазолах, аминокислотах, изатинах, оксоиндолах, а также атомов азота, кислорода, хлора, брома в гликозидах, оксадиазолах, хинолонах, изатинах, азолах и фенольных остатков в гликозидах и оксадиазолах), так и от их расположения и формы сочетания в молекуле.
5. У исследуемых препаратов, относящихся к различным классам органических соединений, отмечен более низкий уровень бактериостатического эффекта в отношении исследуемых штаммов условно-патогенных бактерий по сравнению с традиционными антибиотиками. Наиболее выраженной антибактериальной активностью в отношении обоих видов тестовых микроорганизмов обладал хинолон М023А.

Список литературы

1. Покровский В.И. Медицинская микробиология. – М.: ГЭОТАР – МЕД, 2002. – 765 с.
2. Хайтович А.Б. Динамика антибиотикочувствительности бактерий рода *Yersenia* / А.Б. Хайтович, И.П .Отурина // Ученые записки ТНУ. Серия «Биология, химия». – 2004. – Т. 18 (58), №2:. – С. 113-119.
3. Отурина И.П. Динамика антибиотикочувствительности бактерий *Klebsiella pneumoniae* / И.П. Отурина, Б.В. Зацепина // Ученые записки ТНУ. Серия «Биология, химия»– 2006. – Т. 19 (58), №1. – С. 73-79.
4. Гивенталь Н.И. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар / Н.И. Гивенталь, Е.Р. Соболев, Е.А. Ведьмина // Лабораторное дело. – 1982. – № 1. – С. 44-48.
5. Сертифікат якости № 48. Діагностичні тест-системи (диски для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків), серія 67 від 07. 04. 2003. – С. 2.
6. Кашкин К.П. Антибиотики / Кашкин К.П., Безбородов А.М., Елинов И.П. – М.: Медицина, 1994. – 540. с.
7. Падейская Е.И. Новое в проблеме фторхинолонов // Антибиотики и химиотерапия. – 1994. – №5. – С. 52-66.

8. Пассет Б.В. Основные процессы химического синтеза биологически активных веществ. – М.: ГЭОТАР – МЕД, 2002. – С. 5 – 8.
9. Курьянов В.О. Синтез и антимикробная зависимость 2,5-замещенных 1,3,4-оксадиазолов / В.О. Курьянов, М.К. Токарев, И.П. Отурина // Ученые записки ТНУ. Серия «Биология, химия». –2005. – Т.22 (61), № 7.. – С.65 - 68.
10. Никифоров В.А. Медицинская микробиология. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2000. – С. 42-47.
11. Франклин Т. Биохимия антимикробного действия / Т. Франклин, Д. Скоц. – М.: Мир, 1984. – С. 55-60.
12. Навашин С.М. Рациональная антибиотикотерапия / С.М. Навашин, И. П. Фомина – М: Медицина, 1982. – С. 5 – 7, 13 – 23, 3 – 34, 56 – 58, 121 – 125.
13. Глущенко Н. Н. Фармацевтическая химия / Н. Н. Глущенко, Г. В. Плетнева, В. А. Попков– М.: Academa, 2004. – С. 210-212.
14. Жунгитц Г.И. Изатин и его производные / Г.И. Жунгитц, М.А. Рехтер– Кишинев, «Штиинца», 1977. – С.152-157.

Отуріна І.П., Ємел'янова Г.О., Кур'янов В.О. **Вивчення антимікробної активності нових синтетичних хіміопрепаратів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 110-120.

Досліджено динаміку чутливості штамів *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli,* що виділені у Сімферополі від людей, до антибіотиків і синтетичних препаратів з різних класів органічних сполук з використанням методу дифузії в агар. Встановлено, що ефективність дії залежить від наявності в їхніх молекулах активних радикалів, концентрації і видових особливостей мікроорганізмів.

Ключові слова: чутливість, бактерії, антибіотики, антимікробні препарати, активні радикали.

Oturina I.P., Yemelyanova A.A., Kuryanov V.O. **The study of antimicrobial activity of the new synthetic chemical preparations** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 110-120.

The dynamics of sensitivity of the *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains, sown in Simferopol from people, to the antibiotics and synthetic preparations from the different classis of organic compound with the use of diffusion in agar method was investigated. It was determined that the efficiency of action depends from occurrence of the active radicals in their molecules, concentration and species characteristics of microorganisms.

Key words: sensitivity, antibiotics, antimicrobial preparations, bacteria, active radicals.

Поступила в редакцию 16.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 121-125.

УДК 612.858.7

ЭЭГ-КОРРЕЛЯТЫ ПРОЦЕССА ПРИНЯТИЯ РЕШЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА

Павленко В.Б., Фокина Ю.О., Махин С.А., Лицов Д.И.

В работе показаны различия в ЭЭГ характеристиках человека при принятии решения, связанного с согласием или несогласием с предъявляемым утверждением. Предполагается, что принятие положительного или отрицательного решения связано с активацией или торможением системы «зеркальных» нейронов мозга человека.
Ключевые слова: электроэнцефалограмма, принятие решения, «зеркальная» система мозга.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современной психофизиологии является изучение мозговых механизмов, лежащих в основе принятия решения. С открытием «зеркальных» нейронов мозга [1, 2] возникают новые гипотезы, основой которых является предположение о важнейшей роли «зеркальной» системы в принятии решений человеком [3 – 10]. «Зеркальные» нейроны – это нейроны, которые активируются как при выполнении человеком определенных действий, так и тогда, когда этот человек просто смотрит или представляет, как эти действия выполняет кто-то другой. Благодаря системе этих нейронов, мы имплицитно понимаем и предвосхищаем действия других людей, не прибегая к сложным сознательным умозаключениям [1]. В настоящее время выявлены ЭЭГ корреляты работы «зеркальных» нейронов – это, так называемый, фи-комплекс с частотой 10-13 Гц. Центро-париетальная топография фи-комплекса совпадает с нейроанатомическим расположением системы «зеркальных» нейронов [11]. Однако исследований, показывающих связь работы «зеркальных» нейронов с ЭЭГ характеристиками принятия решения, не проводилось. В связи с этим, целью данной работы явился анализ ЭЭГ-коррелятов принятия решения связанного с согласием или несогласием с предъявляемым утверждением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 30 человек в возрасте 17 – 45 лет (19 женщин и 11 мужчин, все правши). Все испытуемые были добровольцами и не находились в состоянии эмоционального стресса. Во время исследования испытуемый располагался в удобном кресле и находился в состоянии спокойного бодрствования при открытых глазах, ему предлагалось выразить свое мнение (в виде согласия или несогласия) относительно 30 утверждений на политическую, религиозную, социальную тематики. Во время ответов регистрировали ЭЭГ.

Отведение ЭЭГ осуществлялось в 16-ти отведениях по общепринятой методике с помощью автоматизированного комплекса, состоящего из электроэнцефалографа («TREDEX Эксперт ТМ») и компьютера. Определяли мощность ритмов ЭЭГ в следующих диапазонах: тета-ритм (4 – 8 Гц), альфа1-ритм (8 – 10 Гц), альфа2-ритм (10 – 12 Гц) (совпадает по частоте с фи1-комплексом), альфа3-ритм (12 – 14 Гц) (на частоте 12 – 13 Гц – фи2-комплекс), бета$_1$-ритм (14 – 19 Гц), бета$_2$-ритм (19 – 30 Гц) и мю-ритм (7 – 11 Гц). Рассчитывали также отношения мощностей различных ритмов: альфа1-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, альфа2-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, альфа3-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, бета1-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, бета2-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, мю-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, фи1-комплекса к средней мощности всего спектра ЭЭГ, фи2-комплекса к средней мощности всего спектра ЭЭГ, фи2-комплекса к мощности фи1-комплекса, фи2-комплекса к средней мощности альфа-ритма, фи1-комплекса к средней мощности альфа-ритма, фи2-комплекса к мощности мю-ритма, фи1-комплекса к мощности мю-ритма. Спектры мощностей ритмов ЭЭГ были рассчитаны отдельно для двух вариантов ответов – когда испытуемый соглашался с предъявляемым ему утверждением и когда не соглашался. Данные, полученные при этих вариантах ответов, сравнивались между собой.

Статистическую обработку проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ ЭЭГ характеристик при «согласии» или «несогласии», позволил выявить достоверные различия в правом и левом центральных и правом париетальном отведениях. Эти данные согласуются с результатами исследований Тогноли с соавт. [11] в которых показаны изменения ЭЭГ в центро-париетальных отведениях при активации «зеркальной» системы мозга.

Нами выявлены достоверные различия в значениях удельной мощности альфа1-ритма, зарегистрированного в центральном левом отведении, при этом при «согласии» указанный ритм был в среднем на 15,0 ± 6,3 % ниже, по сравнению с ответами, выражающими «несогласие», принятыми за 100 % (рис. 1).

Также были выявлены статистически значимые различия в диапазоне альфа2-ритма в правых центральных и теменных отведениях. В указанных отведениях мощность альфа2-ритма была на 20,5 ± 6,7 % и 16,4 ± 6,2 % (соответственно) ниже при согласии человека с предъявляемым утверждением (рис. 1). В правом центральном отведении нами обнаружено достоверное снижение отношения мощности альфа2-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ при принятии решения в виде «согласия» (рис. 1).

Выявлены также различия в удельной мощности мю-ритма ЭЭГ. Достоверными такие изменения были в правом центральном отведении. Мощность мю-ритма в этом отведении при «согласии» была на 14,3 ± 5,6 % ниже, чем при «несогласии» (рис. 1). Кроме этого были выявлены статистически значимые различия при сравнении величин

отношений мощности мю-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ в правых центральном и париетальном отведениях (рис. 1).

В правом центральном отведении для величин, отражающих отношения мощности фи2-комплекса к мощности фи1-комплекса и мощности фи2-комплекса к мощности мю-ритма были выявлены статистически значимые различия, проявляющиеся в увеличении указанных мощностей при принятии решения в сторону «согласия» (рис. 1).

Таким образом, при решении в виде «согласия» были ниже мощности всех компонентов альфа-ритма и была выше мощность фи2-комплекса.

Мю- и альфа-ритмы, мощность которых была выше при «несогласии», вероятно отражают торможение «зеркальной» системы мозга, которое в нашем исследовании проявляется в том, что испытуемый не согласен с предъявляемым ему утверждением. В тоже время фи2-комплекс, вероятно, связан с активацией «зеркальной» системы мозга и эта активация проявляется в том, что человек соглашается с предъявляемым ему утверждением. Эти предположения подтверждаются исследованиями Э.Тонголи [11], в которых показано, что фи1-комплекс отражает торможение «зеркальных» нейронов характерное для независимого поведения, которое не связано с поведением окружающих, в то же время фи2-комплекс отражает активацию «зеркальной» системы, характерную для координированного поведения, т.е. в нашем случае это «согласие» человека с предъявляемым ему утверждением.

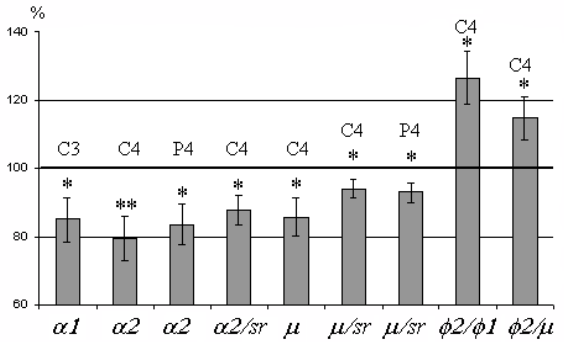


Рис. 1. Характеристики ритмов ЭЭГ, зарегистрированные в правом (С4), левом (С3) центральных и правом париетальном (Р4) отведениях, при согласии человека с предъявляемым утверждением в %, по сравнению с показателями ритмов ЭЭГ при несогласии, принятыми за 100%.

Примечание: α1 – мощность альфа1-ритма; α2 – мощность альфа-2 ритма; α2/sr – отношение мощности альфа2-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ; μ – мощность мю-ритма; μ/sr – отношение мощности мю-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ; ϕ2/ϕ1 – отношение мощности фи2-комплекса к мощности фи1-комплекса и ϕ2/μ – отношение мощности фи2-комплекса к мощности мю-ритма.

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Таким образом, фи-комплекс отражает активность регулирующего механизма, избирательно отделяющего индивидуальное от социального и связан с принятием решения согласия или же несогласия [12].

ВЫВОДЫ

1. Выявлены статистически значимые различия в характеристиках ЭЭГ человека при принятии решения, связанного с согласием или несогласием с предъявляемым утверждением.
2. Показано, что отношение мощностей фи2- к фи1-комплексу и фи2-комплекса к мю-ритму в правом центральном отведении было достоверно выше при согласии человека с предъявляемым утверждением, по сравнению с противоположным решением.
3. Выявлено, что удельные мощности альфа1- (в левом центральном отведении), альфа2- (в правых центральном и париетальном отведениях) и мю-ритма (в правом центральном отведении) были достоверно выше при несогласии человека с предъявляемым утверждением. Также при «несогласии» выявлено более высокое отношение мощности альфа2-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, зарегистрированной в правом центральном отведении и более высокое отношение мощности мю-ритма к средней мощности всего спектра ЭЭГ, зарегистрированной в правых центральном и париетальном отведениях.
4. Проведенные исследования позволяют утверждать, что принятие положительного или отрицательного решения в ответ на предъявленное утверждение связано с активацией или торможением системы «зеркальных» нейронов мозга человека.

Список литературы

1. Рамачандран В. Разбитые зеркала: теория аутизма / В. Рамачандран, Л. Оберман // В мире науки. – 2007. – № 3. – С. 34–46.
2. Rizzolatti G. Premotor cortex and the recognition of motor actions / G. Rizzolatti, L. Fadiga, V. Gallese [et al.] // Cognit. Brain Res. – 1996. – № 3. – P. 131–141.
3. Barsalou L. W. Social embodiment / L. W. Barsalou, P. M. Niedenthal, A. K. Barbey [et al.] //The Psychology of Learning and Motivation. – 2003. – № 43. – P. 43–92.
4. Brass M. The inhibition of imitative and overlearned responses: a functional double dissociation / M. Brass, J. Derrfuss, D. Y. Von Cramon // Neuropsychologia. – 2005. – № 43. – P. 89–98.
5. Elsinger C. L. From preparation to online control: reappraisal of neural circuitry mediating internally generated and externally guided actions / C. L. Elsinger, D. L. Harrington, S. M. Rao // NeuroImage. – 2006. – V.31. – P. 1177–1187.
6. Fogassi L. Parietal lobe: from action organization to intention understanding / L. Fogassi, P. F. Ferrari, B. Gesierich [et al.] // Science. – 2005. – № 308. – P. 662–667.
7. Frith C. Theory of mind / C. Frith, U. Frith // Curr. Biol. – 2005. – № 15. – P. 644–645.
8. Lau H. C. Attention to intention / H. C. Lau, R. D. Rogers, P. Haggard [et al.] // Science. – 2004. – № 303. – P. 1208–1210.
9. Puce A. Electrophysiology and brain imaging of biological motion / A. Puce, D. Perrett // Philos Trans R. Soc. London. – 2003. – № 358. – P. 435–445.
10. Stamenov M. Mirror Neurons and the Evolution of Brain and Language / M. Stamenov, V. Gallese. – Amsterdam/Philadelphia : John Benjamins Publishing Company, 2002. – 390 p.
11. Tognoli E. The phi complex as a neuromarker of human social coordination / E. Tognoli, J. Lagarde, G.

DeGuzman [et al.] // PNAS. – 2007. – №. 104. – P. 8190–8195.
12. Blakemore S. J. Somatosensory activations during the observation of touch and a case of vision-touch synaesthesia / S. J. Blakemore, D. Bristow, G. Bird [et al.] // Brain. – 2005. – № 128. – P. 1571–1583

Павленко В.Б., Фокіна Ю.О., Махін С.А., Ліцов Д.І. **ЕЕГ-корреляти процесу ухвалення рішення у людини** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 121-125.

У роботі показані відмінності в ЕЕГ характеристиках людини при прийнятті рішення, пов'язаного з згодою або незгодою з пропонованим затвердженням. Передбачається, що прийняття позитивного або негативного рішення пов'язане з активацією або гальмуванням системи «дзеркальних» нейронів мозку людини.

Ключові слова: електроенцефалограма, прийняття рішення, «дзеркальна» система мозку.

Pavlenko V.B., Fokina Yu.O., Machin S.,A., Litsov D.I. **EEG correlates of process of decision-making in humans** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 121-125.

The article presents the variations of EEG patterns during the process of decision making on expressing agreement/disagreement with (socially sensitive) statements provided. It is hypothesized that making positive and negative decisions can correlate with activation and inhibition of the "mirror" neuron system in the human brain.

***Keywords*:** electroencephalogram, decision-making, "mirror" brain system.

Поступила в редакцию 16.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 126-133.

УДК 376.352:796:615.825

ПІДВИЩЕННЯ РУХОВОЇ АКТИВНОСТІ ДІТЕЙ ЗІ ЗНИЖЕНИМ ЗОРОМ ЗАСОБАМИ ЛІКУВАЛЬНОЇ ФІЗИЧНОЇ КУЛЬТУРИ

Романенко О. В., Картак О. А.

Ефективне подолання порушень фізичного розвитку у дітей зі зниженим зором можливе за умови розробки та впровадження індивідуальної програми ЛФК на кожного учня окремо з урахуванням індивідуальних психічних, фізичних та зорових особливостей.

Ключові слова: діти зі зниженим зором, лікувальна фізична культура, підвищення рухової активності,індивідуальна програма

ВСТУП

Актуальність дослідження пов’язана з переходом спеціальних закладів на нову структуру й оновлений зміст навчання в якому зосереджується увага на особистісному і соціально-психологічному спрямуванні розвитку дітей з особливими потребами. У спеціальному навчальному закладі інтернатного типу дитина більш обмежена в довільній руховій активності в порівнянні зі своїми однолітками, які навчаються в масовій школі. Ці фактори створюють несприятливі умови для фізичного розвитку дітей з особливими потребами, які перебувають у спеціальних навчальних закладах.

Останнім часом викликає занепокоєння погіршення стану здоров'я та фізичного розвитку дітей зі зниженим зором. Спостерігається різке збільшення кількості захворювань опорно-рухового апарату, центральної нервової системи, серцево-судинної та дихальної систем, зростання кількості різноманітних соматичних розладів та захворювань організму. Спостерігається велика кількість вродженої та набутої дитячої патології в перші роки життя. Дуже часто загальний стан дітей ускладнюється наявністю не одного, а декількох супутніх діагнозів [1].

Розвиток фізичних якостей молодшого віку протікає нерівномірно, скачкообразно, у віці 7-10 років проходить посилений ріст дитини. Фізіологи називають цей вік підростковим відрізком чи "періодом закруглення". Задачі виховання в період посиленого росту: розвивати рухові навички, підтримати досягнутий рівень розвитку.

Молодший шкільний вік (7-10 років) взагалі характеризується деяким затриманням росту тулуба в довжину і посиленням загального розвитку організму. Збільшуються вага тіла, коло грудної клітини, м’язи та їх сила, піднімається робоча потужність серця і легенів. В молодшому шкільному віці розвиваються м'язи – рухом відчуття, покращується зоровий і дотиковий контроль за використання рухів.

Вдосконалюється координація між зоровим сприйняттям і виконанням рухів. У дітей зі зниженим зором основна форма сприйняття дотикова-рухова. Дитину потрібно навчити слідкувати за рухами в просторі [2, 3].

У дітей зі зниженим зором ще в ранньому періоді життя знижується не тільки пізнавальна, а і рухова активність. Це приводить до того, що дитина значно пізніше, чим звичайний за розвитком одноліток, приймає вертикальне положення при ходьбі, при звичайній стійці часто відмічається неправильним положенням стопи. Аналіз спеціальної методичної літератури дає змогу відмітити, що рівень фізичної підготовки дітей з депривацією зору значно відстає від одноліток без порушення зору. Відставання в рості від 6 до 13см, ваги від 3 до 5 %, а в показниках округи грудної клітки у дітей зі зниженим зором до 4,7см, а також відставання в розвитку легенів [4, 5].

Принципи корекції вторинних відхилень дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при використанні лікувальної фізичної культури (ЛФК), на наш погляд повинні враховувати специфічність особливостей психічного і фізичного розвитку; дотримуватись загально прийнятим дидактичним принципам, а саме: індивідуальність в методиці і дозуванні фізичних вправ в залежності від первинного дефекту і вторинних відхилень в розвитку; системність впливу із забезпеченням певного підбору вправ (з урахуванням стану зору і можливостей використання зорових можливостей); регулярність дій; постійне застосування фізичних вправ що забезпечує розвиток функціональних можливостей організму, а також придбання необхідного запасу уяв про предмет руху, чи вправи. Доведено, що збереження уяв залежить від гостроти зору [6, 7].

Постійність у використанні фізичних вправ, принцип корекції порушень функцій і основних систем організму можливий тільки при багаторазових, і наполегливих повтореннях фізичних вправ. Факти свідчать про те, що образи пам'яті дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при відсутності підкріплення зникають. Навіть невеликі відрізки часу 1-3 місяці негативного впливають на їх уяву, швидке забування засвоєного матеріалу пояснюється не тільки недостатньою кількості повторень, але і недостатньої значимості об'єктів, їх понять.

Зряча дитина з самого раннього дитинства сприймає дійсність, спостерігаючи за людьми, які її оточують, за їх роботою, діями і рухами, наслідує їх. Пізніше дитина порівнює свої дії з діями дорослих і виправляє свої рухи, звільняючи їх від всього зайвого. Завдяки цьому рухи її стають все більш координованими і раціональними. Таким шляхом зряча дитина без сторонньої допомоги отримує ряд необхідних рухових навичок, самостійно фізично розвивається. Дитина зі зниженим зором нерідко бездіє, що послаблює її кістки, зв'язки, м'язи, ходу робить невпевненою, дії і рухи – несміливими, нерішучими, в'ялими.

Для того, щоб дитина зі зниженим зором повноцінно фізично розвивалася, отримувала необхідні рухові навички, щоб її рухи стали природними, легкими і виправданими, її з самого раннього дитинства потрібно вчити рухатись. Бувають випадки, коли вчитель змушений витрачати дуже багато часу і праці, щоб переконати дитину зі зниженим зором в тому, що ті чи інші її рухи протиприродні і незручні, що вони не дають їй можливості досягти кращих результатів. І тільки

після довготривалої праці, по мірі того як рухи стають нормальними, дитина починає розуміти, що вони дійсно зручніші ніж ті, що вона вигадала. Такі явища частіше всього зустрічаються у дітей, які в ранньому дитинстві і особливо в більш старшому віці, коли діти у вихованні були надані самі собі.

Відмічаючи деякі особливості, з якими приходиться рахуватися, працюючи з дітьми зі зниженим зором, невірно було б припускати, що ці особливості властиві всім або вони в однаковому ступені виражені у кожного з них. Діти частково втрачають зір в різні періоди життя. Отже, способи і час, які необхідні для пізнання оточуючого, будуть у них різні. Крім того, час і ступінь часткової втрати зору виявляють великий вплив на фізичний розвиток дитини.

Для найбільш ефективного проведення занять вчителю необхідно всебічно знати кожного учня: він повинен знати не тільки його фізичний стан, але й причини і час часткової втрати зору, його дані і можливості, сильні і слабкі сторони його характеру і багато іншого. Тільки в цьому випадку буде можливим індивідуальний підхід.

Під час навчання дитини зі зниженим зором рухам необхідно зважати, що вона погано управляє своїм тілом. Це виражається, власне, у невмінні своєчасно напружити і розслабити м'язи. Деякі діти можуть бути розслаблені і не можуть напружити м'язи; інші - надмірно напружені і не вміють розслабити їх. Наприклад, під час пророблення вправи: взяти руки в сторони і напружити їх з подальшим розслабленням, тобто вільним падінням униз - більшість дітей зі зниженим зором довгий час опускають руки скутими; під час різких поворотів тулуба праворуч і ліворуч з повним розслабленням рук у частини руки навіть не відриваються від стегон. Діти часто роблять вправи правильно, але з великою напругою.

Тому, метою дослідження було: на підставі вивчення своєрідності рухової активності дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку, розробити індивідуальну програму на кожного учня з лікувальної фізкультури, спрямовану на подолання труднощів рухової активності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилося на базі Боярської спеціальної школи-інтернат для дітей зі зниженим зором, з вересня 2007 року до травня 2008 року. Було обстежено 6 дітей молодшого шкільного віку. За діагнозом діти мають наступні первинні відхилення: Сергій,(№1) 1998 р/н., вроджена аномалія зорового аналізатора, дегенерація сітківки, вторинна косоокість. 0,6/0,1; Єлизавета,(№2) 1998 р/н., висока ступінь близорукості обох очей, амбліопія. 0,4/0,7; Катерина,(№3) 1999 р/н., міопичний астигматизм обох очей, амбліопія. 0,6/0,4; Станіслав,(№4) 1998 р/н., спів дружня збіжна косоокість, амбліопія високого ступеня. 0,8/1; Кароліна,(№5), 1999 р/н., дальнозорий астигматизм, горизонтальний астигматизм, збіжна косоокість. 0,4/0,4; Руслан,(№6) 1998 р/н., гіперметропія вищого ступеню 0,3/0.4.

Була вперше розроблена комплексна (на кожного учня) індивідуальна програма з лікувальної фізкультури, яка використовувалась у основній частині заняття. Оздоровчо-лікувальну роботу з дітьми зі зниженим зором проводили після вивчення стану різних сторін рухової функції (сили, координації, швидкості і т. п.) в умовах компенсаторної перебудови.

На першому етапі дослідження у вересні-жовтні 2007 року були проведені: спостереження за заняттями з ЛФК початкової школи дітей зі зниженим зором, а пізніше і самостійне проведення заняття з ЛФК.

На другому етапі дослідження в листопаді 2007 року проводився експеримент, визначався фізичний розвиток та фізична підготовка дітей зі зниженим зором початкової школи I-IV класів, здійснено аналіз та оцінку його результатів. Розроблялися рекомендації щодо підвищення рухової активності дітей засобами ЛФК, скоректовано
календарні плани з лікувальної фізичної культури I-IV класів, удосконалено комплекси вправ для корекції вторинних відхилень.

На третьому етапі дослідження з січня до травня включно, апробовані індивідуальні програми з ЛФК на кожного учня в основній частині заняття, експериментально апробована ефективність впливу рухливих ігор в заключній частині заняття. Після експерименту, в кінці травня 2008 року, повторно визначався фізичний розвиток та фізична підготовка дітей зі зниженим зором II класу, та для зрівняння співставленні з даними дітей одноліток з нормальним зором, за даними Круцевич Т.Ю. [8], проведено теоретичне та науково-методичне узагальнення результатів експерименту.

При проведенні досліджень були враховані загально дефектологічні концептуальні положення Державного стандарту початкової ланки спеціальної освіти для дітей зі зниженим зором.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз показників фізичного розвитку молодших школярів виявив, що порушення зорових функцій в дитячому віці уповільнює природній хід цього процесу. При цьому вікова динаміка в основних рисах зберігається, проте діти значно відстають у фізичному розвитку від зрячих однолітків [8]. Так, на початковому етапі досліджень, величина показника, що характеризує силу, в середньому склала 10,5±1,8 раз, показник підйому в сід склав 23,5±1,1раз/хв. Швидкість бігу на 30м, що характеризує прудкість, коливалася по групі от 7,3с до 6,2с і в середньому склала 6,8±0,2с. Показник спритності, визначуваний за швидкістю човникового бігу 4х9м, склав 13,0±0,2с, а гнучкість, визначувана по глибині нахилів тулубу вперед з положення сидячи, коливалася від 5см до 8см і в середньому склала 6,2±0,5см (рис.1.1-1.5).

Фізичним станом дітей зі зниженим зором необхідно управляти, тобто змінювати його в потрібному напрямку. Наприклад, дитина має недостатній рівень розвитку точності рухів і сили м'язів рук. Підібравши відповідні фізичні вправи і виконуючи їх в оптимальному дозуванні, ми зможемо за деякий період ліквідувати ці недоліки. Процес управління фізичним станом дітей буде ефективним лише при врахуванні особливостей фізичного розвитку і формування рухів дітей зі зниженим зором.

У підборі і раціональному використанні засобів і методів фізичного навантаження інвалідів по зору важливе місце відводиться вивченню рухової функції. Визначення рівня показників м'язової сили, швидкості рухів, швидкісно-силової підготовки, витривалості і функції рівноваги дозволить успішно управляти

процесом виховання, вирішувати оздоровчо-лікувальні задачі в корекційно-відновлювальній роботі з дітьми зі зниженим зором з метою виправлення вторинних відхилень.

При повторному визначенні рівня фізичного розвитку і фізичної підготовки дітей із зниженим зором в травні 2008 року було встановлено, що всі досліджувані показники істотно покращали. Так, показник, що характеризує силу, виріс до 15,0±2,3раз, що на 42,9%($p \leq 0,001$) вище за початковий рівень (рис. 1). Показник підйому в сід склав 32,5±0,8раз/хв, що на 38,3%($p \leq 0,001$) вище за початковий рівень (рис. 2). Швидкість бігу на 30м коливалася по групі від 5,9с до 5,2с і в середньому склала 5,5±0,1с, що на 19%($p \leq 0,001$) нижче за початковий рівень (рис. 3). Швидкість човникового бігу 4х9м склала 12,4±0,2с, що на 5% нижче за початковий рівень($p \leq 0,001$), а гнучкість, визначувана по глибині нахилів тулубу вперед з положення сидячи, коливалася вже від 10см до 17см і в середньому склала 13,3±1,2см, що на 116,2% ($p \leq 0,001$) вище за початковий рівень, який був при першому обстеженні рік потому (рис. 4, 5).

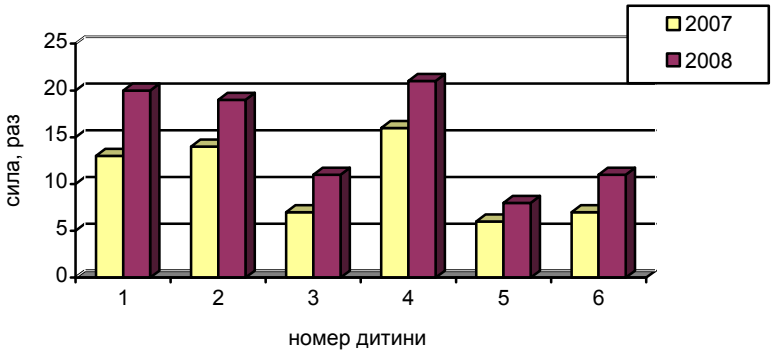


Рис. 1. Зміна показнику сили (згинання і розгинання рук в упорі лежачі на підлозі, раз) у дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при використанні індивідуальної програми занять з ЛФК.

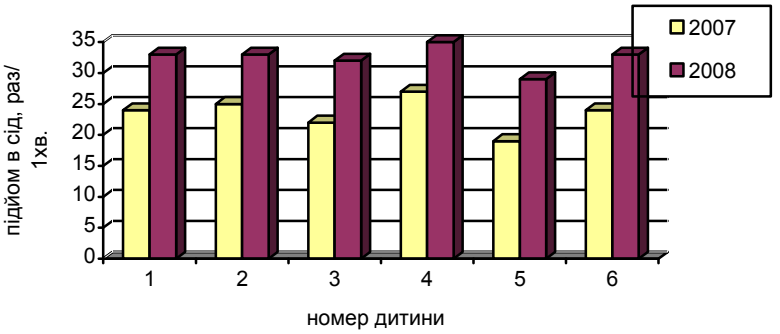


Рис. 2. Зміна показнику підйому в сід (за 1 хв., раз)у дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при використанні індивідуальної програми занять з ЛФК.

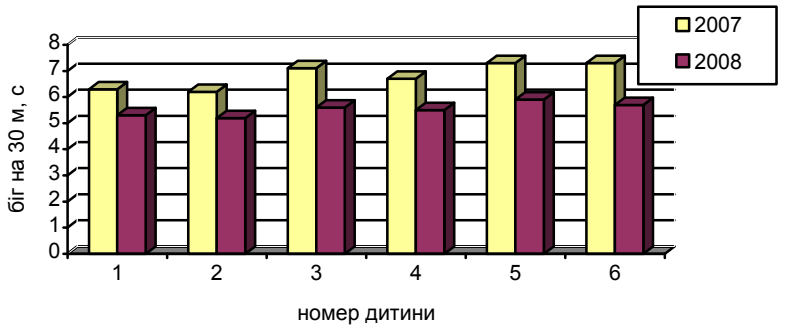


Рис. 3. Зміна прудкості (біг на 30м, с) у дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при використанні індивідуальної програми занять з ЛФК.

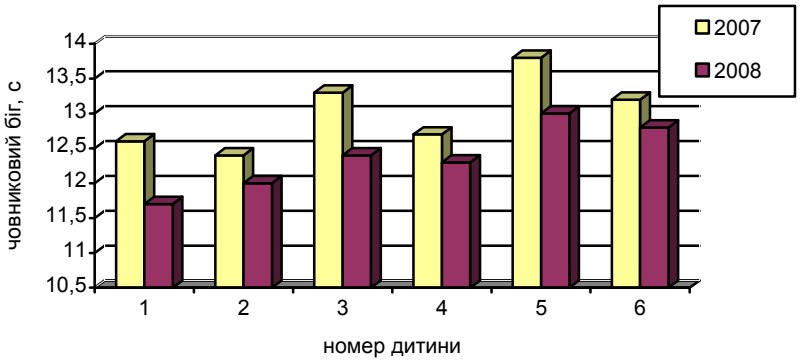


Рис. 4. Зміна спритності (човниковий біг 4×9 м,с) у дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при використанні індивідуальної програми занять з ЛФК

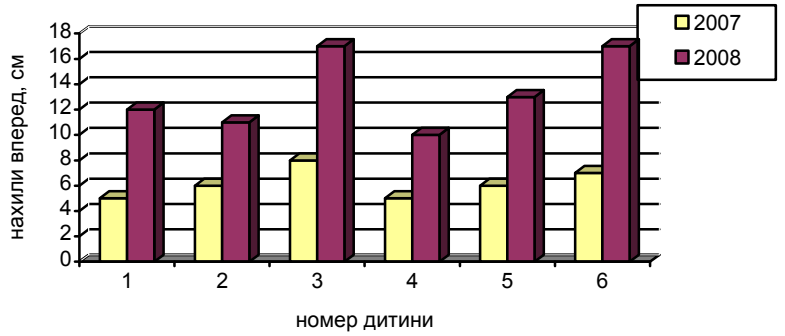


Рис.5. Зміна показнику гнучкості (нахили тулуба вперед, положення сидячи, см) у дітей зі зниженим зором молодшого шкільного віку при використанні індивідуальної програми занять з ЛФК.

Здійснюючи м'язову роботу у вигляді вправ на заняттях ЛФК отримуємо стимулюючу (тонізуючу), трофічну, компенсаторну і нормалізуючу дію на організм. Стимулююча дія ЛФК пов'язана з підвищення рівня життєдіяльності організму і його найважливіших функціональних систем. Вона проявляється у посиленні діяльності фізіологічних систем хворого. Цінним проявом стимулюючої дії ЛФК є підвищення емоційного тонусу хворого.

Трофічна дія засобів ЛФК проявляється у загальному і спрямованому змінені обміну речовин у м'язах і внутрішніх органах, які пов'язані з роботою певних м'язових груп. В її основі лежить складні біохімічні і фізіологічні зсуви, спрямовані на відновлення енергетичного потенціалу м'язів.

Аналіз результатів дослідження засвідчив високу ефективність запропонованої експериментальної методики підвищення рухової активності дітей зі зниженим зором засобами лікувальної фізичної культури на тлі зростання показників фізичної підготовки, що досліджувалися, і досягнення вище середнього і високого рівнів фізичної підготовки в експериментальній групі порівняно показникам контрольної групи.

Наявність певної складної, комбінованої патології істотно впливає та значною мірою обумовлює майбутній фізичний та соматичний стан дитячого організму, її рухову активність. Вплив ЛФК на рухову активність дітей зі зниженим зором розглядаємо як метод патогенетичної терапії, оскільки при застосуванні засобів лікувальної фізкультури у загальну відповідну реакцію всього організму включаються і ті фізіологічні механізми, які беруть участь у патогенетичному процесі. Нажаль запропонована індивідуальна програма з ЛФК не покращила первинного стану патології зору, що і не було завданням дослідження, але, як корекція вторинних порушень надало величезний позитивний вплив на рухову активність, фізичну підготовку та здоров'я дітей. Запропоновані методичні рекомендації дали можливість вчителю з ЛФК корегувати навантаження під час кожного заняття з індивідуальним підходом, за індивідуальною програмою.

ВИСНОВКИ

Розроблена комплексна, на кожного учня початкової школи, індивідуальна програма з лікувальної фізкультури, яка використовувалась у основній частині заняття, сприяла певній нормалізації фізичного розвитку дітей даної категорії та підвищенню рухової активності. Використання фізичних вправ за індивідуальною програмою, як засобу фізичної реабілітації, є надзвичайно важливим фактором у навчальних закладах для слабозорих дітей.

Список літератури

1. Синьов В.М. Загальні та специфічні закономірності психічного розвитку дитини при нормальному і ушкодженому зорі / В.М. Синьов, Є.П. Синьова // Соціально-психологічні проблеми тифлопедагогіки. Збірник наукових праць викладачів, аспірантів та студентів-науковців кафедри тифлопедагогіки НПУ імені М.П. Драгоманова. – Вип. 1.– 2003. - С 1-7.
2. Сермеев Б. В. Физическое воспитание детей с нарушением зрения. – К.: Здоров'я, 1987. – 104 с.

3. Полторацький А.А. Корекційна спрямованість та гуманне ставлення до дітей с порушенням зору. / Досвід роботи вчителя ЛФК Боярської спецшколи-інтернату для слабозорих дітей. Методичні рекомендації. м. Боярка, 2007. – 39 с.
4. Ермаков В. П., Якунин Т. А. Развитие, обучение и воспитание детей с нарушениями зрения. Учебное пособие для вузов. - М.: ВЛАДОС, 2000. – 239 с.
5. Малаев Д. М. Педагогические основы формирования игры слепых и слабовидящих детей как средства коррекции их нравственного и физического развития. Автореф. докт. дис. -М., 1995. – 28 с.
6. Романенко О.В. Програмне забезпечення корекційних занять з просторового орієнтування для дітей з вадами зору / О.В. Романенко, Л.С. Коваль / Збірник наукових праць НПУ ім. М.П. Драгоманова. Серія 19. «Корекційна педагогіка та психологія».– К., 2007. - № 8. – С. 54-57.
7. Романенко О.В. Модель фахівця тифлопедагога туристсько-екскурсійної діяльності. Науковий часопис // Збірник наукових праць НПУ ім. М.П. Драгоманова. Серія №19. «Корекційна педагогіка та психологія».– К, 2008. – № 10– С. 138-145.
8. Теорія та методика фізичного виховання /За ред. Т.Ю. Круцевич. – К.: Олімпійська література, 2008.-367 с.

Романенко А.В., Картак А.А. **Повышение двигательной активности детей со сниженным зрением средствами лечебной физической культуры //** Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского, Серия „Биология, химия”. – 2009. – Т. 22 (61). – № 2. – С. 126-133.

Эффективное преодоление нарушений физического развития у детей со сниженным зрением возможно при условии разработки и внедрения индивидуальной программы лечебной физической культуры на каждого ученика отдельно с учетом индивидуальных психических, физических и зрительных особенностей.

Ключевые слова: дети со сниженным зрением, лечебная физическая культура, повышение двигательной активности, индивидуальная программа.

RomanenkoA..V., Kartak A..A. **Increase of motive activity of children with mionectic sight of medical physical culture //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 126-133.

Effective overcoming of violations of physical development for children with mionectic sight possibly on condition of development and introduction of the individual program of medical physical culture on every student separately taking into account individual psychical, physical and visual features.

Keywords: children with mionectic sight, medical physical culture, increase of motive activity, individual program.

Поступила в редакцию 12.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 134-139.

УДК 612.82/.83; 612.821

ФАКТОРНИЙ АНАЛІЗ МІКРОСТРУКТУРИ ОПЕРАТИВНОЇ ПАМ'ЯТІ НА ЗОРОВІ ВЕРБАЛЬНІ ТА НЕВЕРБАЛЬНІ СТИМУЛИ У ЧОЛОВІКІВ ТА ЖІНОК

Філімонова Н.Б., Куценко Т.В.

За результатами факторного аналізу у жінок виявлено дві функціональні системи оперативної пам'яті – систему запам'ятовування вербальної інформації та систему, яка пов'язана з увагою. У чоловіків виявлено три функціональні системи оперативної пам'яті: 1 – система запам'ятовування нескладної вербальної та невербальної інформації, 2 – система запам'ятовування саме літер, 3 – система запам'ятовування складної невербальної інформації.

Ключові слова: оперативна пам'ять, жінки, чоловіки, вербальні, невербальні стимули.

ВСТУП

На даний момент актуальним є виявлення та дослідження особливостей властивостей пам'яті у жінок і чоловіків [1, 2]. Відмінності у структурі пам'яті між чоловіками та жінками обумовлені статевим диморфізмом мозку [3 – 5]. Показано, що у праворуких чоловіків передній відділ мозолистого тіла (rostrum) більший, ніж у праворуких жінок. У жінок більшим виявився його задній відділ (splenium), а саме – його перешийок (istmus) [3]. В роботі [4] методом ядерно-магнітного резонансу (ЯМР) вимірювався абсолютний обсяг мозолистого тіла та обсяг переднього мозку і їх співвідношення. Показано, що у жінок обсяг переднього мозку менший, ніж у чоловіків. При цьому абсолютний обсяг мозолистого тіла був однаковий, тому відносний обсяг мозолистого тіла до переднього мозку у жінок більший, ніж у чоловіків. Також з використанням методу ЯМР в роботі [5] показано, що у чоловіків процентний вміст сірої речовини було вищим в лівій півкулі, порівняно з правою, а процентний вміст білої речовини, навпаки, був вищим у правій півкулі. У жінок ніякої асиметрії виявлено не було. Автори пов'язують це з особливостями когнітивних функцій та меншою функціональною асиметрією у жінок.

Дослідження властивостей оперативної пам'яті у чоловіків та жінок не виявило значущих відмінностей у абсолютних значеннях показників [6 – 7]. Припускаючи, що анатомічні відмінності можуть супроводжуватись функціональними, ми висунули припущення, що однаковий результат за показниками оперативної пам'яті досягається за рахунок різної організації процесів, які цей результат забезпечують. Саме тому ми вирішили дослідити особливості організації мікроструктури оперативної пам'яті на зорові вербальні та невербальні стимули у чоловіків та жінок.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідженні взяли участь 60 студентів (30 жінок та 30 чоловіків) біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка у віці 20±2 роки, всі праворукі. Кожний з обстежуваних послідовно проходив 4 комп'ютерні субтести оцінки розвитку короткочасної пам'яті. В першому субтесті оцінювалась оперативна пам'ять на літери (Л). Обстежуваному для запам'ятовування пред'являлась деяка множина приголосних літер, кількість яких у цій множині послідовно зростала від 2 до 7. Певна кількість літер у субтесті повторювалась по 10 разів з випадковою комбінацією різних приголосних. Час експозиції кожної множини літер складав 1.5 с, після чого літери згасали, а через 1 с з'являлась тестова літера, стосовно якої необхідно було відповісти, чи була вказана літера в попередній множині (для чого треба було правою рукою натиснути клавішу "/"), чи її там не було (для чого треба було натиснути лівою рукою клавішу "z"). Всі інші субтести організовані за аналогічною схемою. В другому субтесті оцінювалась оперативна пам'ять на цифри (Ц), в третьому субтесті – на прості геометричні фігури (Г1): круг, еліпс, квадрат, ромб, та інш. (рис.1), а в четвертому субтесті – на геометричні фігури з двома ознаками (Г2): форма (круг, еліпс, квадрат та прямокутник) і зафарбування вертикальної або горизонтальної половини фігури (рис.2). В усіх субтестах реєструвався час реакції в мс з точністю до 10 мс, після чого обчислювався середній час реакції на певну кількість подразників (ЛП) в мс з точністю до 1 мс; крім того, фіксувалась правильність / помилковість відповіді.

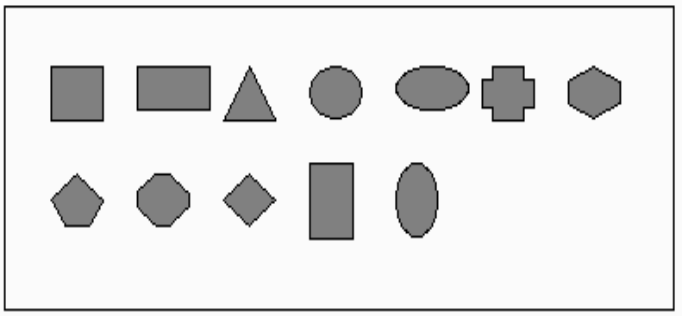


Рис. 1. Прості геометричні фігури, які пред'являлись в третьому субтесті

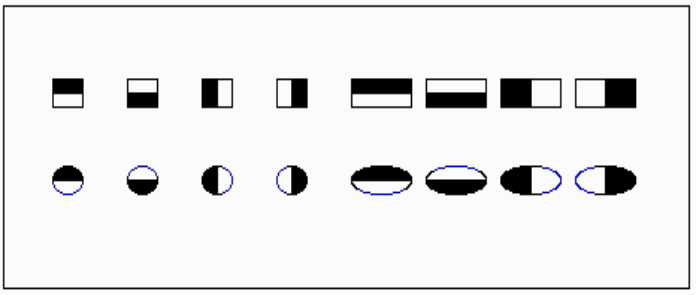


Рис. 2. Геометричні фігури з двома ознаками, які пред'являлись в четвертому субтесті.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ми застосували мікрострурний підхід для аналізу отриманих результатів, при цьому проаналізували латентні періоди (ЛП) не лише правильних реакцій, але і помилкових, оскільки процес допущення помилок може відображати роботу системи уваги. Обчислювались ЛП вірних реакцій на Л, Ц, Г1 та Г2 для правої і лівої рук для кожної серії з 2 – 7 стимулів, також обчислювались ЛП помилкових реакцій на Л, Ц, Г1 та Г2 для правої і лівої рук для кожної серії з 2 – 7 стимулів. Крім того, обчислювалась відносна кількість помилок для правої і лівої рук для кожної серії з 2 – 7 стимулів для всіх типів стимулів: Л, Ц, Г1 та Г2.

Для того, щоб систематизувати параметри, визначити, на які підгрупи вони розбиваються, які з них є провідними в цих підгрупах, а які показники в певній мірі дублюють інші, було застосовано програму STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Перевірка розподілів досліджуваних психофізіологічних параметрів на узгодженість з нормальним розподілом за критерієм тестом Шапіро-Вілка показала, що більшість з них не є нормально розподіленими величинами з рівнем значущості $p<0.5$. Тому до аналізу взаємозв'язків між показниками було застосовано ранговий кореляційний аналіз Спірмена. Виявлену множину взаємозв'язків було важко проаналізувати, тому необхідно було дослідити структуру множини отриманих параметрів, щоб за рахунок зменшення розмірності знайти максимально ортогональну підсистему координат. Як один з методів стиснення інформації можна розглядати факторний аналіз, бо це – метод зниження розмірності досліджуваного факторного простору, оскільки кореляція між досліджуваними ознаками означає їх надлишковість, а зведення багатьох надлишкових ознак до небагатьох допоміжних ознак (загальних факторів), вільних від надлишковості і є задачею стиснення інформації (зниження розмірності). Оскільки метод факторного аналізу базується на кореляційній матриці Пірсона [8], то його застосування до досліджуваних параметрів, розподіл яких не є нормальним, може призводити до певного викривлення істинних результатів. Для того, щоб застосування факторного аналізу було коректним, пропонуємо попередньо прологарифмувати отримані показники. Зауважимо, що перехід від параметру до його логарифму призводить до зменшення асиметрії початкового розподілу. В результаті розподіл всіх логарифмованих параметрів став нормальним, або наблизився до нього. В моделі з 14 головними факторами рівень обмеження значень власних чисел коваріаційної матриці даних був обраний не нижчим за одиницю. Модель факторного аналізу розкладає кореляційну матрицю досліджуваних параметрів на самовідтворену та залишкову кореляційні матриці. Якість побудованої моделі характеризується відсотком поясненої варіації, який бажано мати не меншим, ніж 80%, і значеннями недіагональних елементів залишкової кореляційної матриці, які повинні бути близькими до нуля [8].

Побудовано дві факторні моделі оперативної пам'яті – для чоловіків та для жінок. Для обох моделей мінімальним є 14 загальних факторів, для яких відсоток сумарної поясненої дисперсії дорівнював 80,5 %. Якість моделі факторного аналізу також контролюється значеннями недіагональних елементів залишкової кореляційної матриці – у тому випадку, якщо вони більші, ніж 0.1, це свідчить про неточність моделі та потребу уточнення зв'язку відповідних пар параметрів. В

факторній моделі оперативної пам'яті для жінок найбільшими серед відкинутих виявились кореляційні зв'язки між ЛП вірних реакцій правою рукою на 5 стимулів (Ц) та ЛП помилкових реакцій правою рукою на 5 стимулів (Ц) (r = 0,26) і кількістю помилок правої руки на 7 стимулів (Л) та кількістю помилок лівої руки на 7 стимулів (Г2) (r = 0,25). В аналогічній моделі для чоловіків найбільшими серед відкинутих виявились кореляційні зв'язки між кількістю помилок лівої руки на 3 стимули (Г1) та кількістю помилок лівої руки на 7 стимулів (Г2) (r = 0,24) і між ЛП вірних реакцій правою рукою на 2 стимули (Ц) та ЛП помилкових реакцій правою рукою на 2 стимули (Ц) (r = 0,19).

В результаті побудови моделі факторного аналізу з застосуванням стратегії нормалізованого варімакс, як методу обертання факторів, отримано матрицю навантажень загальних факторів на досліджуванні параметри. Навантаження – це коефіцієнти кореляції між відповідними парами "загальний фактор – параметр". Таким чином, ми отримали розбиття комплексу показників оперативної пам'яті на 14 підгруп за корельованістю з загальними факторами. Інтерпретація результатів факторного аналізу базується на теорії функціональної системи як одиниці інтеграції цілого організму, яка утворюється динамічно для досягнення будь-якої його пристосувальної діяльності і є до певної міри замкненою системою [9]. Будь-який фактор ми асоціюємо з деякою функціональною системою. У жінок в 1 фактор (власне значення = 33,30, а відсоток поясненої варіації – 23,96%) ввійшли ЛП вірних та помилкових реакцій на Л та Ц правою і лівою руками для кожної серії з 2 – 7 стимулів, а для Г1 – ЛП вірних правою рукою на 4-5 стимулів (Г1) і лівою рукою на 2, 4, 6 стимулів (Г1), а також кількість помилок лівою рукою на 2-3 стимули (Л). В 2 фактор (власне значення = 14,56, а відсоток поясненої варіації – 10,48%) ввійшли ЛП вірних реакцій правою рукою на 2 – 3 стимули (Л), на 5 стимулів (Г1), на 2 та 6 стимулів (Г2), помилкових реакцій правою рукою на 2-4 стимули (Л), помилкових реакцій лівою рукою на 3 стимули (Л), на 2 стимули (Г1). Інші показники увійшли в останні 12 факторів з власними значенням 8, 43 – 3,53 та відсотком поясненої варіації – 6,07 – 2,54%. Це свідчить про відсутність сформованих функціональних систем. Таким чином, для жінок можна говорити про дві основні функціональні системи: функціональну систему обробки та запам'ятовування вербальної інформації та систему, яка пов'язана з увагою, бо в цей фактор увійшли показники, які характеризують якість початку тестування, та певну критичну кількість стимулів [6 – 7]. При цьому відносно запам'ятовування літер і цифр латералізація проявляється не дуже яскраво, в той час, як до другого фактору більше увійшло показників, які характеризують роботу правої руки, тобто лівої півкулі. Показники оперативної пам'яті на геометричні фігури практично не увійшли в ці дві системи, а розпались на купу дрібних факторів.

Для чоловіків В 1 фактор (власне значення = 31,29, а відсоток поясненої варіації – 22,19%) ввійшли ЛП вірних реакцій правою рукою на 2 – 4 стимули (Ц), на 2 – 3 стимули (Г1), ЛП помилкових реакцій правою рукою на 2 – 3 стимули (Ц), ЛП вірних реакцій лівою рукою на 2 – 4 стимули (Ц), на 2-6 стимули (Л), на 2 – 3 стимули (Г1) та ЛП помилкових реакцій лівою рукою на 2-3 стимули (Ц), на 2-6 стимулів (Л) та кількість помилок правою рукою на 4 стимули (Г2) та лівою рукою

на 6 стимулів (Ц). В 2 фактор (власне значення = 12,91, а відсоток поясненої варіації – 9,16%) увійшли ЛП вірних реакцій правою рукою на 3-7 стимулів (Л), на 2 стимули (Г2), ЛП помилкових реакцій правою рукою на 3-6 стимулів (Л) та кількість помилок правою рукою на 3 – 6 стимулів (Л). В 3 фактор (власне значення = 9,251, а відсоток поясненої варіації – 6,56%) увійшли ЛП вірних реакцій правою рукою на 6-7 стимулів (Г1), на 3 – 4, 6 – 7 стимулів (Г2) ЛП помилкових реакцій правою рукою на 7 стимулів (Г1), на 4 і 6 стимулів (Г2) ЛП вірних реакцій лівою рукою на 6 стимулів (Г1 та Г2) та ЛП помилкових реакцій на 6-7 стимулів (Г2). Інші показники увійшли в останні 11 факторів з власними значенням 8, 01 – 3,68 та відсотком поясненої варіації – 5,68 – 2,61%. Таким чином, для чоловіків можна виділити три основні функціональні системи, пов'язані з процесами оперативної пам'яті. Перша - функціональна система обробки та запам'ятовування нескладної вербальної та невербальної (геометричні фігури з однією ознакою) інформації (2 – 4 стимули), друга – функціональна система запам'ятовування саме літер, а третя система – функціональна система запам'ятовування геометричних фігур як однією, та і з двома ознаками. Ця система включається при запам'ятовуванні більш складної невербальної інформації – геометричних фігур з однією ознакою – для 6 – 7 стимулів та геометричних фігур з двома ознаками. Обробка нескладної як вербальної, так і невербальної інформації відбувається в обох півкулях, процеси запам'ятовування літер більш виражені в лівій півкулі (права рука), а складні геометричні фігури – в обох півкулях. Можливо, розпізнавання та обробка невербальної інформації відбувається в правій півкулі [10], однак процес тестування побудовано таким чином, що необхідно прийняти рішення по наявність/відсутність фігури в пред'явленій раніше послідовності. Можливо, таке рішення відбувається с залученням лівої півкулі, де процес прийняття рішення вербалізується у "внутрішній" мові і саме тому ми не отримали чіткої латералізації при запам'ятовуванні геометричних фігур.

ВИСНОВКИ

1. У жінок виявлено дві функціональні системи, які реалізують процеси оперативної пам'яті – функціональну систему обробки та запам'ятовування вербальної інформації та систему, яка пов'язана з увагою. Не було виявлено окремої функціональної системи оперативної пам'яті на геометричні фігури.
2. У чоловіків виявлено три функціональні системи, які реалізують процеси оперативної пам'яті – функціональна система обробки та запам'ятовування нескладної вербальної та невербальної (геометричні фігури з однією ознакою) інформації (2 – 4 стимули), друга – функціональна система запам'ятовування саме літер, а третя система – функціональна система запам'ятовування складної невербальної інформації (геометричні фігури з однією ознакою: 6 – 7 стимулів та геометричні фігури з двома ознаками).

Список літератури

1. Duff s.j., hampson e. A sex difference on a novel spatial working memory task in humans // brain and cognition – 2001. – V. 47, issue 3, december. – p. 470-493.
2. Barrett L. F., Tugade M.M. Individual Differences in Working Memory Capacity and Dual-Process Theories of the Mind // Psychol Bull – 2004, July/ – №130(4). – P.553–573..
3. Phillips K.A., Sherwood C.C., Lilak A.L. Corpus Callosum Morphology in Capuchin Monkeys Is Influenced by Sex and Handedness // PLoS ONE – 2007. – v. 2(8) – P.e792.
4. Witelson S.F., Goldsmith Ch.H. The relationship of hand preference to anatomy of the corpus callosum in men // Brain Research – 1991. – № 545. – P.175-182.
5. Gur R.C., Turetsky B.J., Matsui M., Jan M., Bilker W., Hughelt P., Gur R.E. Sex differences in brain gray and white matter in healthy young adult: correlation with cognitive performance // J. Neuroscience – 1999. – №15. – P.4065-4072.
6. Філімонова Н.Б., Куценко Т.В., Макарчук М.Ю. Особливості обробки зорової вербальної та невербальної інформації в оперативній пам'яті людини // Фізика живого – 2006. – Т.14. – № 3. – С. 75 – 86.
7. Філімонова Н.Б., Куценко Т.В. Вплив типу та кількості стимулів на систему обробки інформації у оперативній пам'яті жінок // Вісник Черкаського університету. Серія Біологічні науки – 2008. – Вип. 128. – С.127 – 136
8. Макарчук М.Ю., Філімонова Н.Б., Кравець Т.В. Основні фактори психофізіологічного стану людини // Вісник Київського університету (серія Біологія) – 2008. – Вип. 53. – С. 59– 62
9. Анохин П.К. Узловые вопросы теории функциональной системы. – М.: Наука. – 1980. – 196 с
10. RepovŠ G.,Baddeley A. The multi-component model of working memory: Explorations in experimental cognitive psychology // Neuroscience – 2006. – V. 139, Issue 1, 28 April – P. 5-21

Филимонова Н.Б., Куценко Т.В. **Факторный анализ микроструктуры оперативной памяти на зрительные вербальные и невербальные стимулы у мужчин и женщин //** Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского, Серия „Биология, химия". – 2009. – Т. 22 (61). – № 2. – С. 134-139.

По результатам факторного анализа у женщин выявлены две функциональные системы оперативной памяти – систему запоминания вербальной информации и систему, связанную с вниманием. У мужчин выявлено три функциональные системы оперативной памяти: 1- система запоминания несложной вербальной и невербальной информации, 2 – система запоминания именно букв, 3 – система запоминания сложной невербальной информации.

Ключевые слова: оперативная память, женщины, мужчины, вербальные, невербальные стимулы.

Filimonova N.B., Kutsenko T.V. **Factor analysis of a microstructure of the working memory on visual verbal and nonverbal stimuli for men and women //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 134-139.

On results a factor analysis for women two functional systems of working memory are exposed - system of memorizing of verbal information and system, related to attention. For men three functional systems of main memory are exposed: 1- system of memorizing of the simple verbal and nonverbal information, 2 - system of memorizing exactly of letters, 3 - system of memorizing of difficult nonverbal information.

Keywords: working memory, women, men, verbal, nonverbal stimuli.

Поступила в редакцию 12.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 140-144.

УДК 612.822.3.08

ИЗМЕНЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНОЙ МОЩНОСТИ РИТМОВ ЭЭГ ЖИВОТНОГО ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ СЕАНСОВ БЕТА/ТЕТА ТРЕНИНГА

Фокина Ю.О., Куличенко А.М., Павленко В.Б.

В хронических опытах на двух бодрствующих кошках исследовали спектральную мощность ритмов ЭЭГ после проведения сеансов обратной связи. Тренинги проводились по разработанной модели, в которой уровень звукового сигнала, подаваемый животному, снижался при увеличении отношения спектральных мощностей бета- и тета-ритмов ЭЭГ, зарегистрированной в лобном отведении. Показано, что в результате проведения таких сеансов статистически значимо увеличивается спектральная мощность бета-ритма в лобном и левом височном отведениях.

Ключевые слова: электроэнцефалограмма, обратная связь, бета/тета тренинг.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время все большее распространение в лечении психологических, неврологических и психосоматических состояний получает метод обратной связи по характеристикам ЭЭГ (ЭЭГ-ОС) [1 – 4]. Этот метод часто используется для лечения синдрома нарушения внимания и гиперактивности. При этом для коррекции нарушений проводятся тренинги ЭЭГ-ОС на увеличение бета- и снижение тета-ритма ЭЭГ, которые улучшают уровень произвольного внимания и самоконтроль у детей [5 – 7]. Однако вопрос о механизмах, лежащих в основе изменений спектральной ритмики электроэнцефалограммы во время сеансов ЭЭГ-ОС остается открытым. Безусловно, первым звеном таких исследований являются эксперименты на животных. При этом вначале необходимо разработать модель для обучения животного управлять ритмами своей ЭЭГ. В предложенной нами модели во время записи животному подается громкий раздражающий шум. Компьютерная программа регулирует уровень громкости звукового сигнала в зависимости от спектральной мощности (СМ) определенного ритма ЭЭГ животного. Поскольку ритмы ЭЭГ спонтанно меняются, меняется и громкость звукового сигнала. Рост мощности определенного ритма совпадает по времени с уменьшением громкости раздражающего шума. В результате у кошки вырабатывается условный рефлекс – ритмы ЭЭГ меняются так, что громкость подаваемого звукового сигнала становится тише. Целью настоящего исследования является доказательство эффективности предложенной нами модели на примере проведения сеансов бета/тета тренинга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на двух бодрствующих кошках, весом 2,5-4 кг. Животных предварительно оперировали под общим наркозом. В процессе операции на костях черепа (над лобной, правой и левой височными и затылочной областями коры) располагали электроды для монополярного отведения ЭЭГ. Референтный электрод располагали на лобной кости. Через 5 – 7 дней после операции начинали проводить сеансы ЭЭГ-ОС. Во время экспериментов животное располагалось в гамаке и находилось в состоянии спокойного бодрствования. ЭЭГ регистрировали с помощью электроэнцефалографа Bioscrypt BST – 112, сигнал от которого через лабораторный интерфейс SDI–ADC16–16 поступал на вход компьютера с частотой оцифровки 200 Гц. Рассчитывали мощность ЭЭГ в следующих частотных диапазонах: 1-3 Гц (дельта-ритм); 4-7 Гц (тета-ритм); 8-13 Гц (альфа-ритм); 14-30 Гц (бета-ритм); 31-48 Гц (гамма-ритм).

Сеансы ЭЭГ-ОС проводили по следующей схеме: регистрация фоновых показателей (первая мин), подача звукового сигнала ОС (белый шум, вторая-шестая мин), последействие (седьмая мин). Управляемым параметром являлась интенсивность белого шума, которая менялась в зависимости от отношения СМ бета-ритма к СМ тета-ритма (в пределах 70-80 дБ), при этом, чем больше было значение данного соотношения, тем меньшую громкость имел белый шум. Всего проводили 50 - 70 таких сеансов. Данные эксперимента фиксировались в памяти компьютера и в последующем обрабатывались. СМ ритмов ЭЭГ вычисляли с помощью быстрого преобразования Фурье. Дальнейшую обработку и анализ экспериментальных данных проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе изменения СМ каждого ритма ЭЭГ, зарегистрированной во всех исследованных отведениях, после проведения сеансов ОС на увеличение отношения мощностей бета- и тета-ритмов ЭЭГ в лобном отведении, по сравнению с исходными значениями, выявлена общая тенденция к увеличению СМ бета-ритма и снижению СМ тета-активности в составе ЭЭГ бодрствующей кошки (рис. 1). При этом, статистически значимые различия ($P<0,05$) были выявлены только для СМ бета-ритма в составе ЭЭГ, зарегистрированной в лобном и левом височном отведениях. Так, СМ бета-ритма ЭЭГ, отведенной от лобного локуса, после проведения всех сеансов ОС на увеличение отношения мощностей бета- и тета-ритмов составила в среднем 124,0 ± 7,74 %, относительно значений в исходном состоянии принятых за 100% (рис. 1, А). СМ бета-ритма ЭЭГ, зарегистрированной в левом височном локусе, после проведения таких сеансов составила в среднем 120,5 ± 8,51% (рис. 1, В).

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что изменения спектральных компонентов ЭЭГ, зарегистрированной после проведения сеансов ОС имеют пространственно распределенный характер и выявляются во всех исследованных отведениях. При этом наибольший уровень таких изменений проявляется в лобном и левом височном отведениях. Эти данные согласуются с

данными Любара с соавт., в которых показано, что в результате проведения курса нейротерапии, в котором тренируемым параметром являлось отношение мощности тета-ритм/бета1-ритм, это отношение, по сравнению с данными до лечения, значимо уменьшалось в ЭЭГ по всей поверхности головы, несмотря на то, что сеансы ЭЭГ-ОС проводились по одному биполярному отведению по средней линии [9].

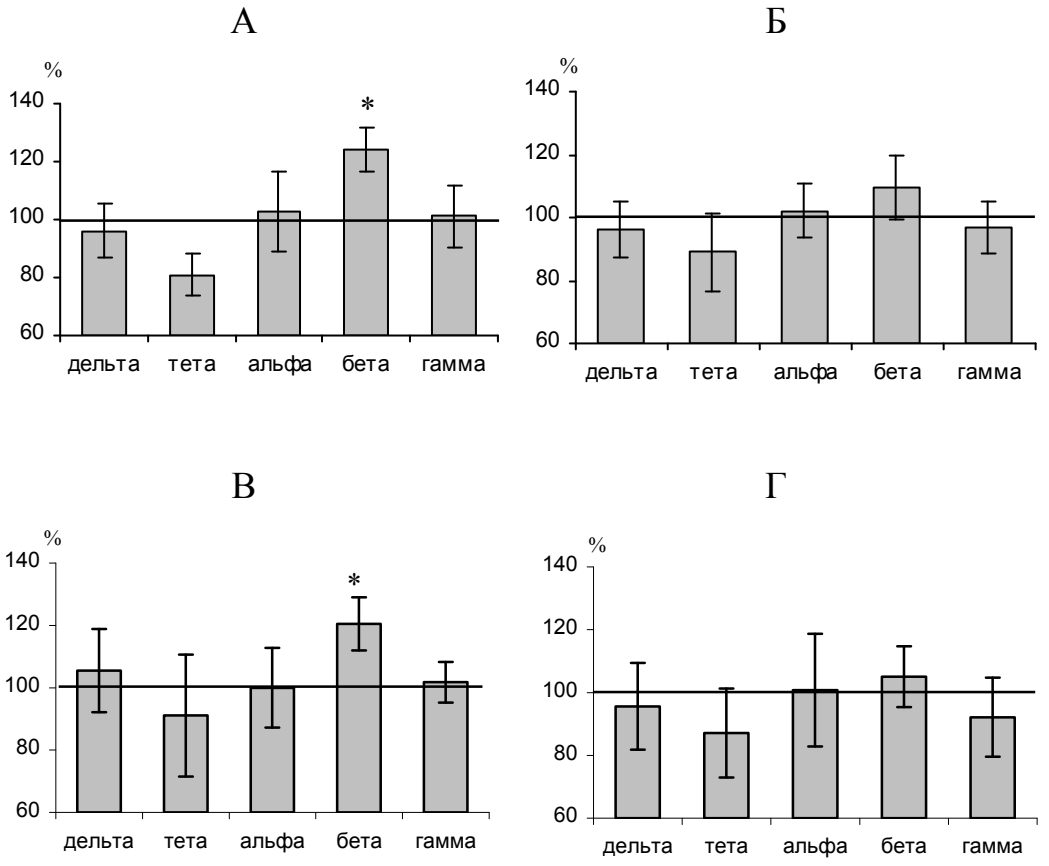


Рис. 1. Изменение спектральной мощности ритмов ЭЭГ, в каждом из исследованных отведений после проведения сеансов обратной связи на увеличение отношения мощностей бета- и тета-ритмов ЭЭГ, зарегистрированной в лобном отведении относительно исходных значений принятых за 100%.

А – лобное отведение, Б – затылочное отведение, В – левое височное отведение, Г – правое височное отведение.

Звездочками отмечены достоверные различия по сравнению с исходными значениями при $P<0,05$.

Известно, что СМ бета-активности связана с интенсивностью когнитивных процессов, в частности с процессами обработки стимулов во фронтальных зонах коры [10, 11] – этим, вероятно, можно объяснить наибольшее увеличение бета-ритма в лобном отведении. В тоже время, Амзика с соавт. [12] показали возможность обучения кошек генерировать быстрые (20-50 Гц) осцилляции с помощью инструментального условного рефлекса. Показано, что кошки пространственно избирательно увеличивали генерацию групп быстрых осцилляций в моторной коре (поле 4) до 140%. В работах В.А. Гринь-Яценко с соавт. [5, 6] показано, что в течение 4-минутных периодов тренинга испытуемым удавалось повысить показатель отношения мощности бета1-ритма к мощности колебаний остальной части спектра ЭЭГ на 30-100%. Установлено, что повышение этого отношения достигалось за счет снижения мощности низкочастотных составляющих спектра ЭЭГ при одновременном увеличении уровня бета1-активности. Достоверный рост СМ бета-ритма в левом полушарии можно объяснить тем, что левое полушарие в большей степени отвечает за специализированную организацию внимания в соответствии с особенностями задачи [13]. Исходя из этого логично предположить, что при проведении бета/тета тренинга животное условно-рефлекторно обучалось концентрировать внимание при подаче сигнала ОС, что в рисунке текущей ЭЭГ проявлялось увеличением мощности бета-ритма.

Таким образом, после проведения сеансов ЭЭГ-ОС отношение мощностей бета- и тета-ритмов растет за счет увеличения СМ бета-ритма и снижения СМ тета-активности в составе ЭЭГ бодрствующей кошки. Изменения спектральных компонентов ЭЭГ после проведения сеансов ОС имеют широко-распространенный характер и проявляются во всех исследованных отведениях. При этом наибольший уровень таких изменений проявляется в лобном и левом височном отведениях.

ВЫВОДЫ

1. Сеансы обратной связи по характеристикам ЭЭГ, направленные на рост бета/тета отношения в лобном отведении ЭЭГ приводят к значительному увеличению спектральной мощности бета-ритма и снижению спектральной мощности тета-ритма во всех исследованных отведениях.
2. Эффект изученных сеансов выражается в статистически значимом росте спектральной мощности бета-ритма лобного и левого височного отведения.

Список литературы

1. Кропотов Ю. Д. Лечение детей с синдромом нарушения внимания с гиперактивностью при помощи метода ЭЭГ-биологической обратной связи / Ю. Д. Кропотов, В. А. Гринь-Яценко, Л. С. Чутко [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2002. – Т. 47, № 3. – С. 37–40.
2. Штарк М. Б. Применение электроэнцефалографического биофидбека в клинической практике / М. Б. Штарк, А. Б. Скок // Биоуправление-3: Теория и практика. – С. 131–141.
3. Egner T. EEG biofeedback of low beta band components: frequency-specific effects on variables of attention and event-related brain potentials / T. Egner, J. H. Gruzelier // Clin. Neurophysiology. – 2004. – V. 115, № 1. – P. 131–139.

4. Linden M. A controlled study of the effects of EEG biofeedback on cognition and behavior of children with attention deficit disorder and learning disabilities / M. Linden, T. Habib, V. Radojevic // Biofeedback and self-regulation. – 1996. – V. 21, № 1. – P. 35–49.
5. Гринь-Яценко В. А. Влияние биологической обратной связи по сенсомоторному ритму и бета-1 ритму ЭЭГ на параметры внимания / В. А. Гринь-Яценко, Ю. Д. Кропотов, В. А. Пономарев [и др.] // Физиология человека. – 2001. – Т. 27, № 3. – С. 5–13.
6. Кропотов Ю. Д. Метод ЭЭГ-биоуправления в лечении синдрома нарушения внимания и гиперактивности у детей / Ю. Д. Кропотов, В. А. Пономарев, В. А. Гринь-Яценко // Физиология человека. – 2001. – Т. 27. – № 4. – С. 126–135.
7. Lubar J. F. Neocortical dynamics: implication for understanding the role of neurofeedback and related techniques for the enhancement of attention / J. F. Lubar // Applied Psychophysiology and Biofeedback. – 1997. – V. 22, № 2. – P. 111–126.
8. Наследов А. Д. Математические методы психологического исследования. Анализ и интерпретация данных : учебное пособие / Андрей Дмитриевич Наследов. – СПб. : Речь, 2004. – 392 с. – (3-е изд., стереотип.).
9. Lubar J. F. Quantitative EEG and auditory event related potentials in the evaluation of attention deficit disorder: Effects of Methylphenidate and implications for neurofeedback training / J. F. Lubar, M. O. Swartwood, J. N. Swartwood [et al.] // J. Psychoeducational Assessment (Monograph series, Special ADHD Issue). – 1995. – P. 143–160.
10. Gomez C. M. Frequency analysis of the EEG during spatial selective attention / C. M. Gomez, M. Vazquez, E. Vaquero // Int. J. Neurosci. – 1998. – V.95, № 1-2. – P. 17–32.
11. Jensen O. On the human sensorimotor-cortex beta rhythm: Sources and modeling / O. Jensen, P. Goel, N. Kopell [et al.] // NeuroImage. – 2005. – Vol. 26, № 2. – P. 347–355.
12. Amzica F. Instrumental conditioning of fast (20- to 50-Hz) oscillations in corticothalamic networks / F. Amzica, D. Neckelmann, M. Steriade // Neurobiology. – 1997. – V. 94. – P. 1985–1989.
13. Posner M. I. The attention system of the human brain / M. I. Posner, S. E. Peterson // Ann. Rev. Neurosci. – 1990. – V.13, № 1. – P. 25–42.

Фокіна Ю.О., Куліченко А.М., Павленко В.Б. **Зміни спектральної потужності ритмів ЕЕГ тварини після проведення сеансів бета/тета тренінгу** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2 – С. 140-144.

У хронічних досвідах на двох бадьорих котів вивчали спектральну потужність ритмів ЕЕГ після проведення сеансів зворотнього зв'язку. Тренінги проводилися по розробленій моделі, у якій рівень звукового сигналу, що подавался тварині, зменшувався при збільшенні відносини спектральних потужностей бета- і тета-ритмів ЕЕГ, зареєстрованої в лобовім відведенні. Показане, що в результаті проведення таких сеансів статистично значиме збільшується спектральна потужність бета-ритму в лобовому й лівому скроневому відведеннях.

Ключові слова: електроенцефалограма, зворотний зв'язок, бета/тета тренінг.

Fokina Yu.O., Kylichenko A.M., Pavlenko V.B. **The changes of spectral power EEG rhythms of animal after realization beta/teta session** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 140-144.

The spectral power of EEG rhythms after biofeedback sessions on two wakeful cats is investigated. EEG biofeedback sessions were carried out based on elaborated sheme, in which the level of audio signal given to an animal, diminished when the relation of powers of beta- and teta-rhythms recorded in frontal area is increased. It is revealed, that spectral power of beta-rhythm in frontal and left temporal leads is significant increased after EEG biofeedback sessions.

***Keywords*:** electroencephalogram, neurofeedback, beta/teta session.

Поступила в редакцию 19.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 145-151.

УДК 582.675.1.086:547.91

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ОЛЕАНДРА ОБЫКНОВЕННОГО (*NERIUM OLEANDER* L.) И ИХ АНАЛИЗ НА СОДЕРЖАНИЕ СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ

Чмелева С.И., Бугара А.М., Омельченко А.В., Якимова О.В.

Исследованы особенности индукции каллусогенеза в культуре вегетативных органов олеандра обыкновенного (*Nerium oleander* L). Подобраны модификации питательных сред Мурасиге и Скуга для получения и пассирования каллусных культур. Химический анализ каллусных культур выявил присутствие в них фракций сердечных гликозидов, характерных для интактных растений.

Ключевые слова: *Nerium oleander* L., каллусная культура, сердечные гликозиды.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из актуальных направлений биотехнологии является получение веществ вторичного метаболизма на основе культивируемых *in vitro* клеток растений. Разработка таких биотехнологий базируется на исследовании закономерностей каллусогенеза и накопления вторичных метаболитов в клеточных культурах. Среди веществ вторичного метаболизма значительный интерес представляют различные гликозиды, проявляющие широкий спектр фармакологического действия.

Значимость гликозидов как биологически активных соединений вызывает интерес к их изучению в клеточных культурах. Гликозиды были обнаружены в каллусных и суспензионных культурах целого ряда видов растений [1 – 6]. При этом удалось показать, что в каллусных и суспензионных культурах могут накапливаться гликозиды, аналогичные гликозидам интактных растений [7, 8]. Установленные факты дают основание предполагать, что гликозиды могут быть обнаружены в культивируемых клетках и других, пока не исследованных в этом отношении видов.

Олеандр обыкновенный (*Nerium oleander* L.) содержит гликозиды сердечного ряда, представляющие интерес для фармакологии [9]. До настоящего времени в известной нам литературе не удалось найти сведений о получении клеточных культур олеандра обыкновенного, содержащих сердечные гликозиды. В этой связи целью настоящей работы являлось определение условий получения каллусных культур и их анализ на присутствие сердечных гликозидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили вегетативные органы олеандра обыкновенного. В качестве инициальных эксплантов использовали сегменты зрелых листьев и узлы стебля. Для соблюдений условий асептики работу по введению эксплантов в изолированную культуру выполняли в условиях ламинарного бокса. Поверхностную стерилизацию материала проводили ступенчато сначала 70 % этанолом (2-5 сек.), затем 100% брадофеном (3 мин) и 15 % перекисью водорода (5 мин) с последующей промывкой в автоклавированной дистиллированной воде. Экспланты культивировали на агаризованных модифицированных питательных сред Мурасиге и Скуга (МС) [10], дополненных ИУК (индолил-3-уксусная кислота), 2,4-Д (2,4-дихлорфенилуксусная кислота), кинетином и БАП (6-бензиламинопурин). Полученный первичный каллус субкультивировали на питательные среды того же состава. Цикл выращивания культур составлял 90-120 суток. В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2х20 см, содержащие 15 мл питательной среды. На каждый вариант питательной среды было высажено по 20 эксплантов определенного типа в 3-х кратной повторности. Экспланты культивировали при температуре 23-25^{0}С, освещенности 4-5 клк и 16-часовом фотопериоде. Частоту каллусообразования оценивали в процентах по количеству эксплантов, давших каллус, от общего числа эксплантированных.

Для химического анализа на содержание сердечных гликозидов использовали каллусные культуры 1-го и 2-го пассажа, индуцированные из сегментов зрелых листьев. Культуры, находящиеся в стационарной стадии роста, извлекали из культуральных пробирок, высушивали при комнатной температуре, а затем измельчали в ступке с 80 % изопропанолом. Смесь нагревали на водяной бане до температуры кипения изопропанола. Для определения наличия сердечных гликозидов на хроматографические пластинки Sorbfil наносили по 0,05 мл смеси в потоке тёплого воздуха. Для разделения гликозидов на фракции использовали систему растворителей 25% трихлоруксусная кислота: 96% этанол: 3% трихлорамин. Пластины нагревали при температуре 100-120^{0}С. Детектирование пятен гликозидов проводили в УФ-свете по специфической флуоресценции. Контролем служили водно-спиртовые экстракты из листьев и стеблей олеандра обыкновенного [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования по индукции каллусогенеза в культуре вегетативных органов олеандра обыкновенного показали, что этот процесс в значительной степени зависел от состава питательной среды и практически не зависел от типа экспланта (табл. 1). Максимальная частота каллусообразования (94-95%) обнаруживалась на питательной среде МСVIII, дополненной 0,5 мг/л ИУК, 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л БАП. Высокая частота каллусообразования (81-86%) выявлена на питательной среде МСVI, содержащей 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л БАП. На других модификациях питательных сред частота каллусообразования была достоверно снижена и значение данного показателя не превышало 61%.

Таблица 1.

Частота каллусообразования в культуре вегетативных органов олеандра обыкновенного в зависимости от состава питательной среды и типа эксплантa

Вариант питательной среды	Типы и концентрации фитогормонов в питательной среде, мг/г				Типы эксплантов	Частота каллусообразования, %
	2,4-Д	ИУК	БАП	кинетин		
MCI	2,0	–	–	0,5	Сегменты зрелых листьев	40,0±0,3
					Узлы стеблей	39,0±0,7
MCII	2,0	–	0,5	–	Сегменты зрелых листьев	59,0±0,3
					Узлы стеблей	56,0±0,5
MCIII	2,0	0,5	–	0,5	Сегменты зрелых листьев	52,0±0,3
					Узлы стеблей	50,0±0,4
MCIV	2,0	0,5	0,5	–	Сегменты зрелых листьев	61,0±0,3
					Узлы стеблей	61,0±0,3
MCV	2,0	–	0,5	–	Сегменты зрелых листьев	38,0±0,2
					Узлы стеблей	37,0±0,8
MCVI	2,0	–	0,5	0,5	Сегменты зрелых листьев	86,0±0,25
					Узлы стеблей	81,0±0,4
MCVII	1,0	–	0,5	0,5	Сегменты зрелых листьев	49,0±0,4
					Узлы стеблей	48,0±0,5
MCVIII	2,0	0,5	0,5	0,5	Сегменты зрелых листьев	94,0±0,15
					Узлы стеблей	95,0±0,24

При введении эксплантов в условия *in vitro* первые признаки каллусогенеза обнаруживались, как правило, через 1-2 недели культивирования. Каллус, индуцированный из эксплантов разного типа, имел светлую, слегка желтоватую окраску, характеризовался плотной консистенцией и невысокой интенсивностью роста. При визуальном анализе каллусных культур не были выявлены признаки морфогенеза, каллус отличался относительной гомогенностью структуры.

При субкультивировании каллусных культур они сохраняли невысокую интенсивность роста и по мере достижения стационарной фазы приобретали слегка буроватую окраску и более плотную консистенцию.

Цитологический анализ пассируемых каллусных культур, индуцированных из эксплантов разного типа, показал, что они состояли из клеток различных размеров и формы. При этом количество клеток определенных типов было различным в зависимости от состава питательной среды (рис. 1). Так, каллусные культуры 2-го пассажа, индуцированные из сегментов листьев, на средах MCIV и MCVIII различались соотношением клеток различных типов.

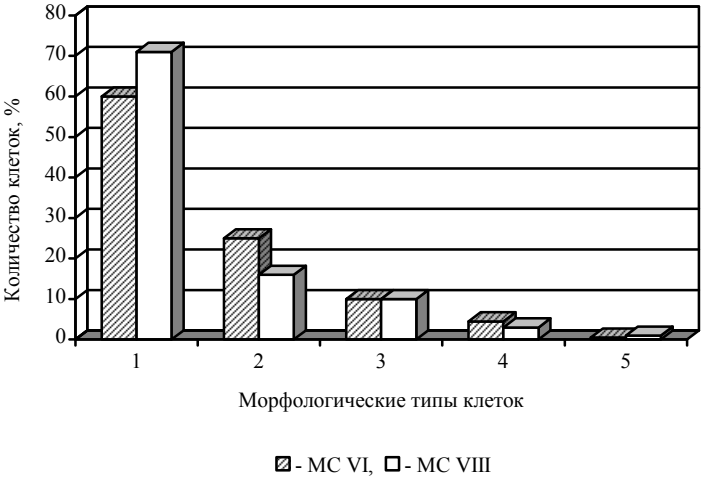


Рис. 1. Количество морфологических типов клеток в каллусных культурах олеандра обыкновенного на питательных средах различного состава: 1 – округлые; 2 – округлые с включениями; 3 – удлиненные; 4 – овальные; 5 – гигантские.

Однако в обоих случаях в каллусных культурах преобладали клетки округлой формы, количество которых на питательной среде MCVI составляло 60%, а на среде MCVIII 71%.

При анализе интактного материала олеандра обыкновенного было выявлено 9 основных фракций сердечных гликозидов, из которых – пять фракций гитоксигенина (голубые хроматографические зоны), две фракции дигитоксигенина (хроматографические зоны золотистого цвета) и две фракции дигоксигенина (хроматографические зоны стального цвета). При этом в стеблях обнаружено четыре фракции, из них три – гитоксигенина (A) и одна дигитоксигенина (B), а в листьях – три фракции дигоксигенина (C) (рис. 2).

Химический анализ каллусных культур 2-го пассажа, индуцированных из эксплантов листовых сегментов и стеблей показал, что количество выявленных фракций сердечных гликозидов зависело от питательной среды и не зависело от типа эксплантa. Максимальное количество фракций сердечных гликозидов было

обнаружено в каллусных культурах, пассируемых на среду MCVIII, содержащей 2 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л ИУК, 0,5 мг/л кинетин, 0,5 мг/л БАП.

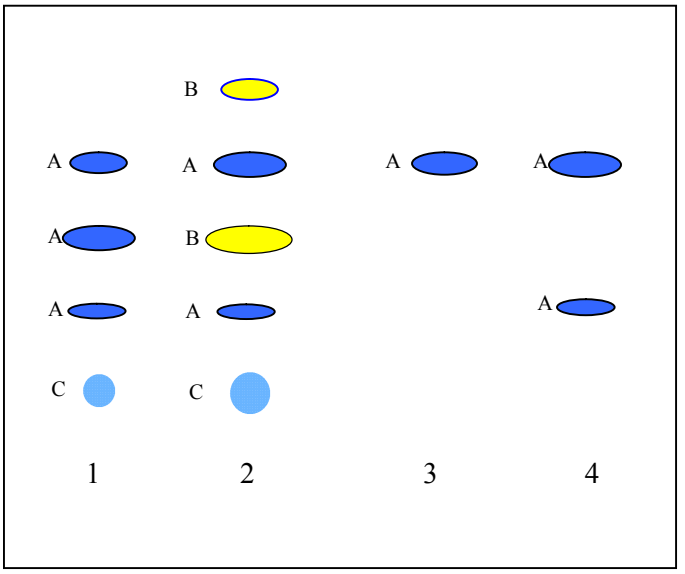


Рис. 2. Схема распределения фракций сердечных гликозидов из органов интактных растений и каллусных культур олеандра обыкновенного: 1 – стебли; 2 – листья; 3 – каллусная культура на питательной среде MCVI; 4 – каллусная культура на питательной среде MCVIII; A – гитоксигенин; B – дигитоксигенин; C – дигоксигенин.

Анализ каллусных культур на содержание сердечных гликозидов показал, что они отличались от интактных органов по количеству фракций сердечных гликозидов. При этом количество выявленных фракций зависело от состава питательной среды.

Таким образом, проведённые исследования позволили подобрать составы питательных сред для индукции каллусогенеза и пассирования каллусных культур олеандра обыкновенного. Химический анализ каллусных культур показал присутствие в них различных фракций сердечных гликозидов. Изложенные результаты подтверждают уже известные факты о возможности получения клеточных культур растений, накапливающих сердечные гликозиды. Так, в последние годы удалось получить экспериментальные доказательства о содержании различных гликозидов в каллусных культурах *Ginkgo biloba*, *Atrogene sibirica*, *Dioscorea deltoidea*, *Panax japoninicus*. При этом было показано, что синтез гликозидов в культивируемых клетках зависит от состава питательной среды, типа эксплантa и возраста культуры [1, 2, 4, 5].

Наши исследования впервые показали возможность получения каллусных культур олеандра обыкновенного, содержащих сердечные гликозиды. Эти результаты открывают перспективы дальнейших исследований, направленных на селективный отбор и получение каллусных и суспензионных культур, обладающих

повышенной продуктивностью в отношении биосинтеза указанных биологически активных веществ.

ВЫВОДЫ

1. Подобраны составы питательных сред для индукции каллусогенеза и получения каллусных культур из эксплантов вегетативных органов олеандра обыкновенного.
2. Исследованы цитоморфологические особенности каллусных культур олеандра обыкновенного и показана вариабельность каллусных клеток по форме и размерам.
3. Установлено, что каллусные культуры из эксплантов зрелых листьев и узлов стеблей олеандра обыкновенного содержат сердечные гликозиды, характерные для интактного растения.

Список литературы

1. Синтез сапонинов в культуре ткани *Atrogene sibirica* L. / [Р. А. Карночук, В. Ю. Дорофеев, И. В. Шимова и др.] // 4-тый съезд общества физиологов растений России в рамках международной конференции «Физиология растений наука 3-его тысячелетия»: тезисы докладов (Москва, 4–9 октября 1999 г.). – М., 1999. – Т.2. – С. 556.
2. Васильев И. С. Стероидные гликозиды из культуры клеток диоскореи, их метаболизм и биологическая активность / И. С. Васильев, В. А. Пасешниченко // Успехи биол. химии. – 2000. – Т.40. – С. 153–204.
3. Карпов П. А. Возможности использования культуры тканей *Yucca macrocara* для получения стероидных гликозидов / П. А. Карпов // Доповіді АН України. – 2000. – № 9. – С. 180–85.
4. Чайко А. Л. Культура клеток женьшеня японського *Panax japoninicus* (var. repens): получение каллусной и суспензионной культур, оптимизация роста и анализ панаксозидов / А. Л. Чайко, О. В. Решетняк, И. Е. Куличенко // Биотехнология. – 1999. – № 6. – С. 51–55.
5. Studies on the callus cultures of *Ginkgo biloba* L. and the identification of the ginkgolides / [Zheng Yu., Rongmin Yu., Yao Xin. et al.] // J. Sheyang Pharm Univ. – 1999. – V.16, № 1. – С. 10–15.
6. Носов А. М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений / А. М. Носов // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. – М. : Наука, 1991. – С. 5–20.
7. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / В. А. Кунах. – К. : Логос, 2005. – 730 с.
8. Пат. 24538, МПК C12N5/04. Спосіб одержання калусної тканини ломиносу виноградолистного (*Clematis vitalba* L.) / С. І. Чмельова, О. М. Бугара, А. І. Сідякин. – заявник і патентовласник Тавр. нац. ун-т. – № u200613099 ; заявл. 11.12.06 ; опубл. 10.07.07., Бюл. № 10.
9. Орлов Б. Н. Ядовитые животные и растения СССР : справочное пособие для студентов вузов по спец. «Биология» / Б. Н. Орлов, Д. Б. Гелашвили, А. К. Ибрагимов. – М. : Высшая школа, 1990. – 272 с.
10. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – V. 15, № 13. – p. 473–497.
11. Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. – М. : Мир, 1980. – 621 с

Чмельова С.І., Бугара О.М., Омельченко О.В., Якимова О.В. **Одержання калусних культур олеандра звичайного (*Nerium oleander* L.) та їх аналіз на вміст серцевих гликозидів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 145-151.

Досліджені особливості індукції калусогенеза в культурі вегетативних органів олеандра звичайного (*Nerium oleander* L). Підібрані модифікації поживних середовищ Мурасіге і Скуга для отримання і пасирування калусних культур. Хімічний аналіз калусних культур виявив присутність в них фракцій серцевих глікозидів, характерних для інтактних рослин.

Ключові слова: *Nerium oleander* L., калусна культура, серцеві глікозиди.

Chmeleva S.I., Bugara A.M, Omel`chenko, A.V., Yakimova O.V. **Getting callus cultures of ordinary oleander (*Nerium oleander* L.) and analysis of cardiac glycosides on the content** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P.145-151.

Features of callus induction in the culture of the vegetative organs of *Nerium oleander* L. were investigated. Selected Murashige and Skug nutrient media modified for obtaining and passage callus cultures. Chemical analysis of callus cultures revealed the presence of fractions of cardiac glycosides, which are typical for the intact plants.

Keywords: *Nerium oleander* L., callus culture, cardiac glycosides.

Поступила в редакцию 07.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 152-165.

УДК 612.014

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Чуян Е.Н., Бирюкова Е.А., Раваева М.Ю., Никифоров И.Р.

Статья посвящена оценке индивидуального профиля функционального состояния организма испытуемых с различным типом вегетативной регуляции. Показано, что испытуемые-ваготоники характеризуются наиболее высокими, а симпатотоники – низкими интегральными показателями функционального состояния организма. Методом кластерного анализа показано наличие разных механизмов поддержания гомеостаза и регуляции функционального состояния у испытуемых с разным тонусом вегетативной нервной системы.

Ключевые слова: вариабельность ритма сердца, нормотоники, симпатотоники, ваготоники, индивидуальный профиль функционального состояния.

ВВЕДЕНИЕ

По мнению некоторых авторов [1, 2], вся информация о состоянии биологического объекта заложена в модуляции биоритмов организма и, в первую очередь, в изменении ритмической активности сердца, а, следовательно, может быть использована для оценки параметров вегетативного гомеостаза – одного из важнейших показателей, характеризующих функциональное состояние (ФС) организма. Изменение ритма сердца при различных состояниях организма и в различных условиях среды рассматривается как достаточно объективный индикатор адаптационных реакций [2, 3]. В связи с этим, сердце и сердечно-сосудистая система (в отличие от традиционного анатомо-физиологического понимания их функций) составляют мощный информационный канал, несущий значительный объем информации, первичным источником которой могут быть все без исключения органы и системы организма [4]. Следовательно, новейшим направлением оценки ФС организма является разработка и усовершенствование информационных способов диагностики на основе комплексного многофакторного подхода к анализу сердечного ритма.

Применение математического анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР) и комплексной оценки сердечно-сосудистой системы (включая характеристики пульса, сердечного ритма, артериального давления, минутного объема, гомеостаза и т.д.) на практике доказало свою эффективность и перспективность для донозологической диагностики заболеваний, в том числе при проведении массовых обследований населения. Следует отметить, что с помощью современных

компьютерных технологий математический анализ ВСР можно провести всего за несколько минут, что является крайне важным для массовых обследований и мониторирования ФС.

Известно, что различные физиологические показатели, используемые в оценке ФС организма, имеют разную информативность, различные отклонения от нормы у испытуемых в зависимости от индивидуальных особенностей и, поэтому вносят неодинаковый вклад в получение окончательного результата. Это дает основание ввести понятие индивидуальный профиль функционального состояния (ИПФС), как комплекс показателей, характеризующих исходное фс организма.

Наши предыдущие исследования [5] показали высокую эффективность применения системы комплексного компьютерного исследования «Омега-М», основанной на анализе ВСР, для оценки особенностей системы вегетативного управления сердцем (СВУС), активность которой, по нашему мнению, вносит наибольший вклад в ИПФС. Однако остается неизученным ИПФС организма испытуемых, принадлежащих к различным типологическим группам, отличающимся в частности, типом вегетативной регуляции. Вместе с тем, данное исследование представляется весьма актуальным, так как, во-первых, значительно дополняет классические способы оценки ритма сердца и, во-вторых, позволяет количественно оценить состояние различных регуляторных систем и всего организма в целом у испытуемых с различным тонусом вегетативной нервной системы (ВНС).

В связи с этим целью настоящего исследования явилось выявление ИПФС организма испытуемых с различным тонусом ВНС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 93 студента-волонтера женского пола в возрасте 20-25 лет, условно здоровых, без признаков сердечно-сосудистой и дыхательной патологии. Все испытуемые по индексу напряженности (ИН) [2, 6] были разделены на 3 группы: нормотоники – 56% (50≤ИН≤200 усл.ед.; n = 53 чел.), ваготоники – 27% (ИН≤50 усл.ед.; n = 25 чел.) и симпатотоники – 17% (ИН≥200 усл.ед.; n = 15 чел.).

Исследование проводилось в утренние часы в тихом, хорошо проветриваемом помещении с постоянной температурой +20 – +22 C^0. Перед началом исследования испытуемым давали время расслабиться, успокоиться. Работу начинали с регистрации ЭКГ сигнала в первом стандартном отведении с помощью системы комплексного компьютерного исследования функционального состояния человека «Омега-М» (Производство научно-исследовательской лаборатории «Динамика», г. Санкт-Петербург). Регистрацию проводили в положении сидя при спокойном дыхании в течение 3-5 минут, то есть времени, необходимого для набора 300 кардиокомплексов.

В качестве методов оценки ИПФС были использованы: метод вариационной пульсометрии, спектральный анализ ВСР (в системе оценок, рекомендуемых стандартами Европейского Кардиологического Общества и Северо-Американского общества стимуляции и электрофизиологии [7]) и принципиально новый метод

фрактальной нейродинамики, позволяющий получить интегральные характеристики ФС испытуемых (табл. 1).

Таблица 1.

Основные методы оценки функционального состояния организма

№ пп	Краткие обозначения	Наименования показателей	Физиологическая интерпретация
Показатели вариационной пульсометрии ВСР			
1	Si, ИН	Индекс напряжения регуляторных систем	Степень преобладания симпатических влияний над парасимпатическими [2]
Показатели спектрального анализа ритма сердца			
2	TP	Суммарная мощность спектра ВСР ($мс^2$)	Суммарный абсолютный уровень активности регуляторных систем [7, 8]
3	HF, (%)	Мощность спектра высокочастотного компонента вариабельности (в % от суммарной мощности колебаний)	Относительный уровень активности парасимпатического звена регуляции ритма сердца [7, 8]
4	LF, (%)	Мощность спектра низкочастотного компонента вариабельности (в % от суммарной мощности колебаний)	Относительный уровень активности вазомоторного центра [7, 8]
5	VLF, (%)	Мощность спектра очень низкочастотного компонента вариабельности (в % от суммарной мощности колебаний)	Относительный уровень активности симпатического звена ВНС [7, 8]
Интегральные показатели ФС			
6	A	Показатель адаптации	Степень активности автономного контура регуляции ритма сердца [4, 9]
7	B	Показатель вегетативной регуляции	Степень активности вегетативного контура регуляции ритма сердца [4, 9]
8	C	Показатель центральной регуляции	Степень активности гипоталамо-гипофизарной системы (ГГС) [4, 9]
9	D	Показатель психоэмоционального состояния	Степень активности центральной нервной системы [4, 9]
10	Health	Интегральный показатель ФС испытуемых	Характеризует общее функциональное состояние [4, 9]

Фрактальный анализ биоритмов является одним из методов, который позволяет выделить связь между различными уровнями регуляции физиологических функций организма. Поскольку фракталоподобные структуры в динамике сердечной и мозговой деятельности свидетельствуют, что в каждой из систем находится информация о каждой, существует проблема определения таких преобразований, которые бы по поведению одной системы в организме могли предсказывать динамику состояния всего организма. Применение математических методов анализа нелинейных систем, устройство и поведение которых подобны друг другу в различных временных и пространственных масштабах, дает основание для успешного решения этой проблемы [4]. Главная идея используемой методики заключена в том, что любые вегетативные функции, будь-то ритмическая активность сердца, изменение температуры, колебание уровня сахара и так далее, содержат в себе всю полноту информации о протекании данных процессов на всех уровнях управления ими. И что самое важное, в них будет отражаться функция всего организма в целом [4].

Известно, что колебания временного ряда кардиоинтервалов обладают самоподобными свойством, то есть отмечается повторяемость свойств в различных временных масштабах [10]. Поскольку сердечно-сосудистая система человека самоорганизована таким способом, что не имеет характерной шкалы длительности или времени, разумно было бы ожидать нарушения ее структуры из-за какого-либо отклонения в ФС. Поэтому, применение фрактального анализа биоритмов позволяет получить более полную информацию о состоянии биологических объектов и существенно дополнить существующие классические методы анализа сердечного ритма.

Нейродинамический метод обработки ритмограмм представляет собой способ преобразования сигналов $f_1(t)$, $f_2(t)$, $f_3(t)$, $f_3(t)$, $f_4(t)$ и $f_5(t)$ в кодовую комбинацию по двоичному основанию, состоящую из последовательности импульсов, все параметры которых одинаковы [9].

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета программ «Омега-М» («Динамика»; г. Санкт-Петербург) и «Статистика 6.0». Для изучения интегральных характеристик показателей использовали кластерный анализ методом k-средних (k-means clustering), который является многомерным статистическим методом, служит адекватным инструментом оценки многокомпонентных реакций организма и позволяет находить скрытые связи как внутри функциональных систем, так и между ними [11].

Для нормирования значений показателей использовали коэффициент сдвига (K) этих показателей по отношению к значениям, полученным в группе нормотоников в %, рассчитанный по формуле:

$$k=\left(\frac{H-K_{1,2}}{K_{1,2}}\right)\times 100$$

где H – значения показателей, полученные в группе нормотоников;

$K_{1,2}$ – полученные в группе симпато- (*1*) и ваготоников (*2*) соответственно.

Достоверность различий полученных данных определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектральный анализ, который широко используется как неинвазивный метод изучения вегетативной регуляции сердца [12], ярко продемонстрировал достоверные различия изученных показателей у испытуемых выделенных групп (табл. 2; рис. 1).

Таблица 2.

Показатели спектрального анализа сердечного ритма у испытуемых выделенных групп ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Показатель	Группы испытуемых		
	Нормотоники (I) n=53	Ваготоники (II) n=25	Симпатотоники (III) n=15
HF %	26,2±1,6 p_{II}<0.05 p_{III}<0.001	34,0±4,1 p_{I}<0.05 p_{III}<0.001	14,2±1,6 p_{I}<0.001 p_{II}<0.001
LF %	39,3±1,9	33,9±3,0	39,9±3,7
VLF %	39,5±4,5	33,4± 2,7 p_{III}<0.05	46,1±3,6 p_{II}<0.05
LF/HF	1,57±0,63	0,92±0,51	3,21±0,61
TOTAL, мс^2	2028,9±118,8 p_{II}<0.001 p_{III}<0.001	4697,8± 274,0 p_{I}<0.001 p_{III}<0.001	706,4±148,7 p_{I}<0.001 p_{II}<0.001
ИЦ	41,5±2,0	35,3± 2,8 p_{III}<0.001	49,7±3,5 p_{II}<0.001

Примечание: $p_{I\text{-}III}$ — достоверность различий по критерию Стьюдента при сравнении значений в группах испытуемых, обозначенных I-III соответственно.

В частности, у нормотоников было зарегистрировано превалирование в спектре низкочастотных (LF и VLF) компонентов над высокочастотным компонентом HF (LF/HF=1,57±0,63) (табл. 2). У симпатотоников наблюдалось превалирование VLF-модуляций и значительное преобладание LF над HF компонентой (LF/HF на 200% выше, чем у нормотоников) (табл. 2; рис. 1), а у ваготоников – примерно одинаковое соотношение всех компонентов спектра, о чем свидетельствует соотношение LF/HF компонентов спектра близкое к 1 (табл. 2). Вместе с тем, в общую мощность спектра, у испытуемых-ваготоников наибольший вклад вносили высокочастотные компоненты спектра (HF), у симпатотоников – VLF, а у нормотоников – LF компоненты (табл. 2; рис. 1).

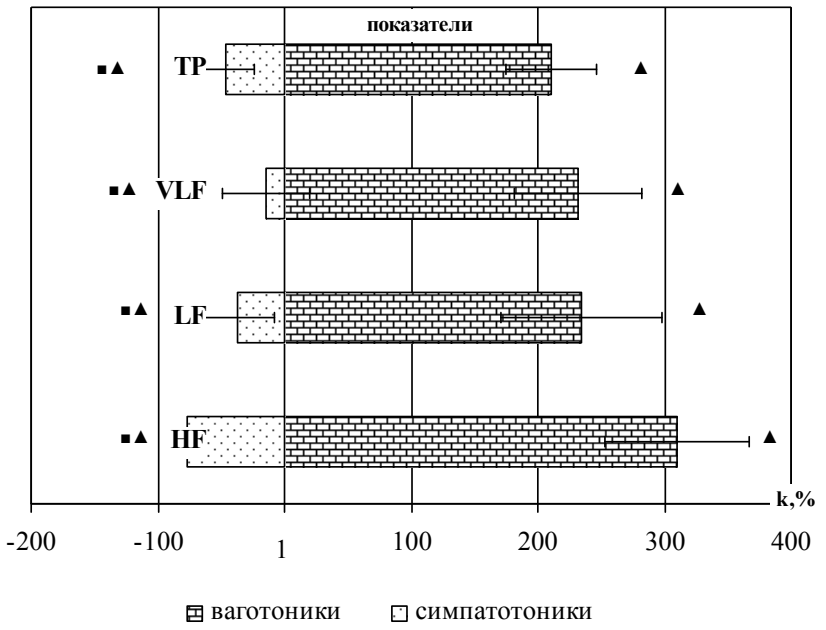


Рис. 1. Значения коэффициента сдвига (k,%) спектральных характеристик ВСР у испытуемых симато- и ваготоников по отношению к значениям, полученным в группе нормотоников.

Примечание: ▲ – достоверность отличий ($p<0,05$) по t-критерию Стьюдента относительно значений в группе нормотоников;

■ – относительно значений в группе ваготоников.

Известно, что на частоту и интенсивность колебаний ритма сердца влияют нейрогенный и гуморальный каналы регуляции [7]. Многочисленные экспериментальные данные указывают на то, что спектр ВСР, получаемый при анализе коротких (3-5 минутных) фрагментов ритмограмм, имеет исключительно нейрогенную природу. Поскольку как высокочастотный, так и оба низкочастотных компонента в спектре ВСР исчезают после денервации сердца [13], нет их у пациентов с трансплантированным сердцем [14] и у плодов – анэнцефалов [15], то нейрогенная природа этих феноменов сомнений не вызывает [2]. Картина исчезновения как дыхательных, так и обоих низкочастотных составляющих ВСР совпадает со смертью мозга [16]. Следовательно, первопричиной их появления служат колебания активности ВНС [14].

В настоящее время считается установленным, что HF компонента спектра, или дыхательные волны, обусловлены вагусной активностью [17, 18], тогда как LF составляющая, по мнению многих авторов, характеризует состояние симпатического отдела ВНС [17] и, в частности, системы регуляции сосудистого тонуса (активность вазомоторного центра) [19, 20]. Поэтому при повышении тонуса симпатического отдела значительно возрастают значения показателя LF/HF [8], что

зарегистрировано в нашем исследовании у симпатотоников. По другой гипотезе, низкочастотные компоненты спектра являются центрогенными: их порождает нейронная сеть ствола мозга, которая определяет колебания интенсивности потока импульсов как симпатических, так и парасимпатических кардиомоторных нейронов с периодом около 10 секунд, т.е. на частоте около 0,1 Гц [21]. Что касается модуляции VLF-волн, то природа их до конца еще не ясна. Спектральная мощность VLF, по мнению многих зарубежных авторов [19, 20], характеризует активность симпатического отдела ВНС. По мнению других авторов [22], VLF отражает церебральные эрготропные влияния на нижележащие уровни и позволяет судить о функциональном состоянии мозга, поскольку амплитуда VLF тесно связана с психоэмоциональным напряжением и функциональным состоянием коры головного мозга. Существуют также данные о том, что мощность спектра в VLF диапазоне может использоваться как надежный маркер степени связи автономных (сегментарных) уровней регуляции кровообращения с надсегментарными, в том числе с гипофизарно-гипоталамическим и корковым уровнями. По данным других авторов [14], VLF является хорошим индикатором управления метаболическими процессами. О тесной связи VLF-компоненты ВСР с метаболическими процессами в организме свидетельствуют исследования, в которых показано, что суточная динамика уровня концентрации в сыворотке крови гормона жировых клеток – лептина – полностью повторяет суточную динамику VLF-диапазона [23].

Следовательно, полученные нами данные о преобладании низкочастотных компонентов спектра у испытуемых – нормотоников (табл. 2; рис. 1) могут свидетельствовать о значительной активации у волонтеров данной группы симпатических влияний на сердечный ритм. Сведения о равном соотношении мощностей всех изученных компонентов спектра и наименьших среди всех испытуемых значениях мощности спектра в VLF диапазоне у ваготоников (табл. 2; рис. 1) указывают на вегетативный баланс организма и наибольшую автономность регуляции сердечного ритма у испытуемых этой группы. Вместе с тем, превалирование в спектре мощности ВСР у симпатотоников VLF-компоненты (табл. 2; рис. 1) подтверждает значительное преобладание симпатических и надсегментарных влияний и отражает повышенную активность центрального, нейрогуморального и метаболического уровней регуляции [22] у испытуемых данной группы.

Полученные результаты могут быть дополнены данными оценки общей мощности спектра у испытуемых выделенных групп. Так, общая мощность спектра у ваготоников оказалась выше, чем у нормотоников и тем более у симпатотоников в 2,23 и 6,65 ($p<0,05$) раза соответственно (табл. 2; рис. 1).

Поскольку известно, что чем выше общая мощность спектра, тем более выражены адаптационные возможности организма [1], то можно сделать вывод о оптимальных адаптационных возможностях этой системы у ваготоников. Кроме того, согласно литературным данным [12], во время симпатической активации тахикардия обычно сопровождается снижением общей мощности спектра, в то время как во время вагусной стимуляции наблюдается обратная картина. Учитывая выше приведенные данные, снижение общей мощности спектра у испытуемых-симпатотоников может быть связано со значительной активацией центров

симпатической регуляции СВУС и большим влиянием центрального контура регуляции на сердечный ритм. Полученные нами данные согласуются с литературными данными [12] и могут отражать индивидуальные особенности испытуемых.

Поскольку в прикладной физиологии и клинической медицине ВСР используется не только для изучения СВУС, но и для оценки состояния здоровья, функциональных резервов, особенностей регуляции и адаптационных реакций организма, то на следующем этапе, анализировали интегральные показатели ФС, которые дают возможность свести в единое целое информацию со всех уровней регуляции организма испытуемых (табл. 3; рис. 2)

Таблица 3.

Интегральные показатели функционального состояния организма испытуемых ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Показатели	Группы испытуемых		
	Нормотоники (I)	Ваготоники (II)	Симпатотоники (III)
A	62,4±1,8 p_{II}<0,001 p_{III}<0,001	86,6±2,2 p_{I}<0,001 p_{III}<0,001	25,8±3,5 p_{I}<0,001 p_{II}<0,001
B	66±2,5 p_{II}<0,001 p_{III}<0,001	96,9±0,5 p_{I}<0,001 p_{III}<0,001	22,3±4,2 p_{II}<0,001 p_{I}<0,001
C	57±1,9 p_{II}<0,001 p_{III}<0,001	74,2±1,9 p_{I}<0,001 p_{III}<0,001	33±5,1 p_{I}<0,001 p_{II}<0,001
D	58,3±1,6 p_{II}<0,001 p_{III}<0,001	76,9±1,7 p_{I}<0,001 p_{III}<0,001	33,2±4,5 p_{I}<0,001 p_{II}<0,001
Health	60,9±1,8 p_{II}<0,001 p_{III}<0,001	83,6±1,3 p_{I}<0,001 p_{III}<0,001	28,6±4,1 p_{I}<0,001 p_{II}<0,001

Примечание: $p_{I\text{-}III}$ — достоверность отличий по критерию Стьюдента при сравнении значений в группах испытуемых, обозначенных I-III соответственно

Таким образом, фи-комплекс отражает активность регулирующего механизма, избирательно отделяющего индивидуальное от социального и связан с принятием решения согласия или же несогласия [12].

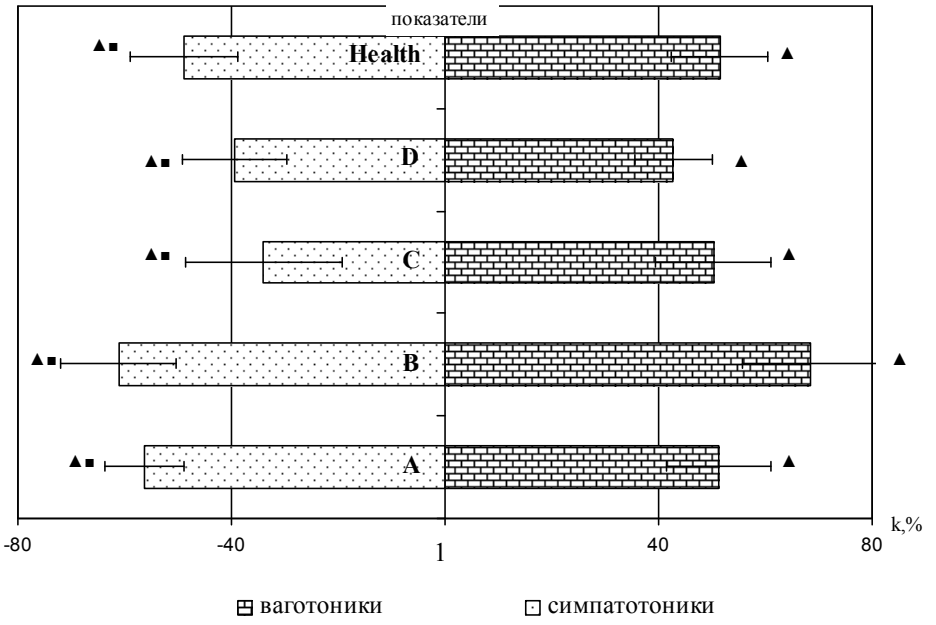


Рис. 2. Значения коэффициента сдвига (k,%) интегральных показателей ФС у испытуемых симато- и ваготоников по отношению к значениям, полученным в группе нормотоников.

Примечание: ▲ – достоверность отличий (p<0,05) по t-критерию Стьюдента относительно значений в группе нормотоников;

■ – относительно значений в группе ваготоников.

У испытуемых-симпатотоников были зарегистрированы наиболее низкие значения интегрального показателя ФС (Health) (на 49%; p<0,05 ниже, чем у нормотоников; табл. 3; рис. 2). Подобные изменения у испытуемых данной группы регистрировали относительно значений остальных интегральных показателей ФС. Так, показатель активности автономного уровня регуляции (A) был на 56%, вегетативного (B) – на 61%, гипоталамо-гипофизарного (C) – на 34%, центрального (D) – на 49% (p<0,05) ниже, чем у нормотоников (табл. 3; рис. 2). У испытуемых-ваготоников, напротив, были зарегистрированы наиболее высокие значения интегральных показателей ФС (табл. 3; рис. 2), свидетельствующие об оптимальном функционировании организма. Следовательно, испытуемые-симпатотоники характеризовались наименьшими значениями всех интегральных показателей, нормотоники демонстрировали средние значения, а ваготоники – наиболее высокие значения интегральных показателей, отражающих ИПФС.

Следует отметить, наибольшие различия среди испытуемых выделенных групп были зарегистрированы в отношении показателей активности автономного (A) и вегетативного уровней регуляции (B) (табл. 3; рис. 2), характеризующих активность регуляции физиологических функций на уровне сердца и симпато-вагусный баланс организма испытуемых. Следовательно, полученные нами данные могут

свидетельствовать о нарушениях в работе автономного и вегетативного контуров регуляции у испытуемых-симпатотоников и оптимальном их уровне у ваготоников.

Важно подчеркнуть, что ВНС выполняет в организме две основные функции: сохранение и поддержание гомеостаза (поддержание в пределах физиологической нормы артериального давления, частоты сердечных сокращений, температуры тела, биохимических показателей и т.д.), а также отвечает за мобилизацию функциональных систем организма для адаптации к изменениям условий окружающей среды, т.е. функцию приспособления. Поэтому, учитывая, что все процессы в организме человека так или иначе, связаны с ВНС, вполне возможно, что в основе различий в ИПФС испытуемых лежит разный тонуса ВНС.

Поскольку все изученные показатели ВСР и ФН тесно связаны между собой (увеличение одних приводит к снижению других) [4, 9], то представляет определенный интерес проследить изменения их взаимосвязи у испытуемых с разным тонусом ВНС. Такие взаимосвязи можно установить с помощью кластерного анализа (рис. 3).

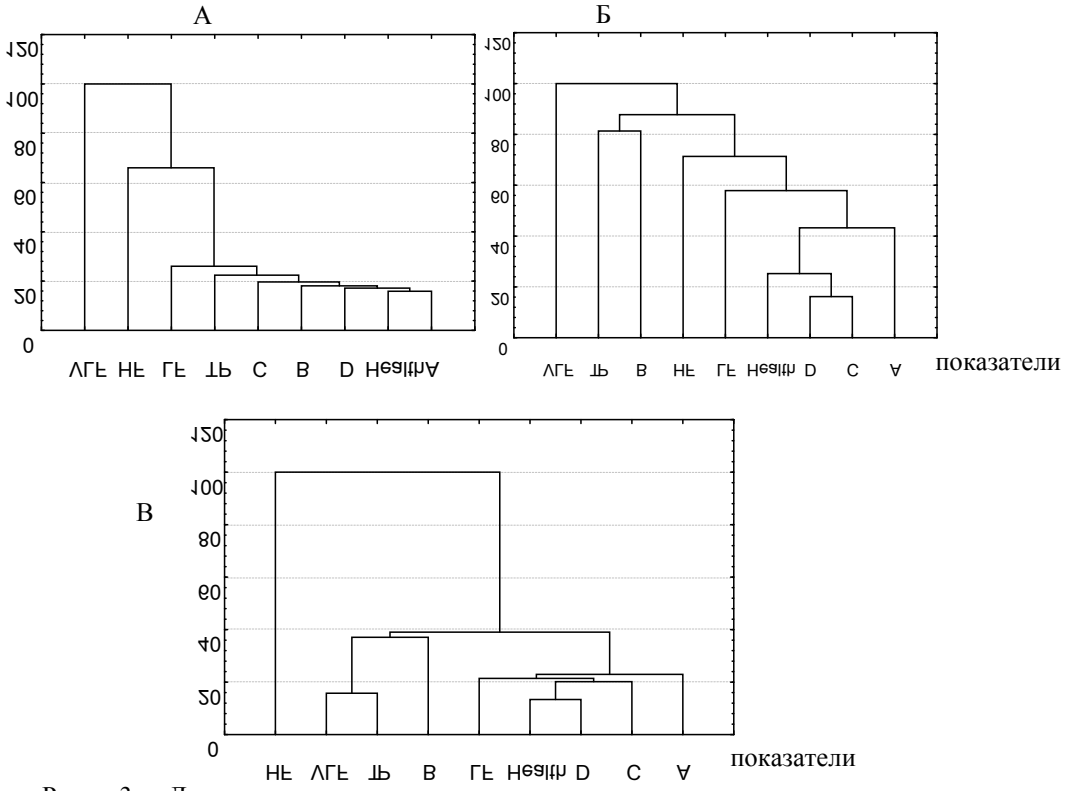


Рис. 3. Дендрограммы кластерного анализа спектральных и интегральных характеристик ВСР и ФС у испытуемых выделенных групп: А – нормотоников, Б – ваготоников, В – симпатотоников.

Так, дендрограмма кластерного анализа показателей спектрального и фрактального анализов, построенная путем иерархического объединения их в

кластеры все более высокой общности на основе критерия минимума расстояния в пространстве переменных, у испытуемых-нормотоников (рис. 3-А) содержала 5 кластеров, в которые объединялись исследуемые нами показатели. Первый кластер содержал интегральные характеристики A, B, C, D, Health, на которые в большей степени оказывали влияние показатели TP, LF и HF, что подтверждает полученные ранее данные о симпато-вагусном балансе организма у испытуемых этой группы.

В дендрограмме испытуемых-ваготоников также были зарегистрированы 5 кластеров (рис. 3-Б). В первый кластер объединились интегральные показатели A, C, D и Health. На этот кластер оказывает влияние второй, содержащий один элемент – мощность низкочастотного компонента спектра (LF), которая отражает активность симпатической нервной системы. На оба описанных кластера опосредованно влияет третий кластер, в который входит мощность спектра в высокочастотном диапазоне (HF), которая у испытуемых данной группы была максимальной и отражает активность автономного контура регуляции [7, 14]. В четвертый объединились показатели общей мощности спектра (TP) и активности вегетативного уровня регуляции (B), что дает основание полагать, что регуляторные процессы у данных испытуемых не связаны с изменением мощности только одного из спектральных компонентов в отдельности, а в целом зависят от изменения общей мощности всех компонентов. Наибольшая длинна связи с изученными показателями у испытуемых данной группы, зарегистрирована для мощности спектра в VLF-диапазоне, которая отражает влияние надсегментарных уровней регуляции и парасимпатического звена ВНС [22] и была минимальной у этих испытуемых. Следовательно, на изученные показатели ФС у испытуемых-ваготоников наибольшее влияние оказывает парасимпатическая нервная система и вегетативный контур регуляции.

У испытуемых-симпатотоников в первый кластер с интегральными показателями ФС была объединена спектральная мощность волн в LF диапазоне (рис. 3-В). Это может свидетельствовать о том, что наибольший вклад в ФС данных испытуемых вносит активность симпатического компонента ВНС (маркером которой и является мощность в LF диапазоне) [17, 19], что и было зарегистрировано в нашем исследовани методом спектрального анализа. Кроме того, выделен кластер, объединяющий показатели VLF и TP (рис. 3-В), что подтверждает полученные нами данные о значительном вкладе в общую мощность спектра VLF компоненты и свидетельствует о преобладании у данных испытуемых влияний со стороны ГГС [22]. Этот кластер опосредованно связан с показателем вегетативного уровня регуляции (B). Это свидетельствует о том, что значительно сниженные адаптационные возможности и высокая активность надсегментарных уровней, зарегистрированные у испытуемых данной группы, вызваны нарушением вегетативной регуляции. Наибольшую длину связи с изученными показателями регистрировали в отношении HF компонентов спектра, что может свидетельствовать о минимальном вкладе автономного контура регуляции и парасимпатической НС (маркером которых является мощность в HF диапазоне) в ФС испытуемых-симпатотоников.

Полученные нами данные кластерного анализа позволяют судить о наличии разных механизмов поддержания гомеостаза и регуляции ФС у испытуемых с

разным тонусом ВНС. Кроме того, результаты исследования позволяют использовать интегральные характеристики, полученные методом фрактального анализа ВСР, в качестве маркеров оценки ИПФС испытуемых.

Таким образом, проведенное исследование показало высокую эффективность применения системы «Омега-М» для оценки ИПФС организма человека. Показано, что испытуемые-ваготоники имеют наиболее оптимальные показатели ИПФС по сравнению с испытуемыми других групп. Отмечены группы студентов с нарушениями ФС организма, что по-видимому является результатом преренапряжения регуляторных систем и мобилизацией резервных возможностей организма. К ним относятся, в первую очередь, симпатотоники и, в меньшей степени, нормотоники. Поскольку, испытуемые симпато- и нормотоники вместе составляют большенство среди волонтеров, полученные нами данные свидетельствуют, что доминирующим в динамике структуры здоровья студентов является рост числа лиц с функциональным напряжением регуляторных систем и адаптационных механизмов.

Следовательно, результаты настоящего исследования позволяют сделать вывод о наличии индивидуально-типологических особенностей ФС у испытуемых с разным типом вегетативной регуляции.

ВЫВОДЫ

1. Результаты проведенного исследования доказали высокую эффективность применения системы комплексного компьютерного исследования «Омега-М» для оценки индивидуального профиля функционального состояния организма человека.
2. Ваготоники характеризуются наиболее высокими, а симпатотоники – низкими интегральными показателями функционального состояния организма.
3. Данные кластерного анализа свидетельствуют о наличии разных механизмов поддержания гомеостаза и регуляции функционального состояния у испытуемых с разным тонусом вегетативной нервной системы.

Список литературы

1. Динамика мощности низко- и высокочастотного диапазонов спектра вариабельности сердечного ритма у больных ишемической болезнью сердца с различной тяжестью коронарного атеросклероза в ходе нагрузочных проб. / А.Р.Киселев, В.И. Гриднев, О.М Посненкова [и др.] // Физиология человека. – Т. 34, №3. – 2008. – С. 57-64.
2. Баевский Р.М. Классификация уровней здоровья с точки зрения теории адаптации // Вестник РАМН СССР. – 1989. – № 8. – С. 73-78.
3. Казначеев В.П., Баевский Р.М., Бересенева А.П. Донозологическая диагностика в практике массовых обследований населения. – Л.: Медицина, 1989. – 208с.
4. Смирнов К.Ю., Смирнов Ю.А. Разработка и исследование методов математического моделирования и анализа биоэлектрических сигналов. – С-Пб, 2001. – 43с.
5. Чуян Е.Н. Комплексный подход к оценке функционального состояния организма студентов // Е.Н. Чуян, Е.А. Бирюкова М.Ю. Раваева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2008. – Том 21 (60), №1. – С. 123-140.
6. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. – М.: Медицина, 1997. – 236 с.

7. Рабочая группа Европейского кардиологического общества и Северо-Американского общества стимуляции и электрофизиологии. Вариабельность сердечного ритма. Стандарты измерения, физиологической интерпретации и клинического использования // Вестн. Аритмол. – 1999. – №11. – С. 53-78.
8. Исследование вариабельности сердечного ритма с использованием пакета программ «КардиоКит»: метод. рекомендации.– СПб: Биосигнал, 2003. – 45 с.
9. Обоснование аппаратно-программных методов, предназначенных для скрининг-диагностики внутренних заболеваний и для оценки эффективности лечебно-профилактических мероприятий в системе диспансеризации военнослужащих и пенсионеров МО: отчет о научно-исслед. работе. – СПб: Изд-во ВМА, 2002. – 77 с.
10. Kobayashi M. Musha T. l/f fluctuation of heartbeat period // IEEE Trans. Biomed. Eng. 1982. V. 29. P. 456.
11. Хроноструктура биоритмов сердца и факторы внешней среды. Монография / Т.К. Бреус, С.М. Чибисов, Р.М. Баевский, К.В. Шебзухов. – М.: Изд-во Рос. ун-та Дружбы народов, 2002. – 232 с.
12. Михайлов В.М. Вариабельность ритма сердца: опыт практ. применения. Иваново: Гос. мед. академия, 2002.– 290 с.
13. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: A quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control / Akselrod S.D., Gordon D., Ubel F.A. [et al]. // Science. – 1981. – Vol. 213, N 4503. – P. 220-222.
14. Spectral analysis of heart rate variability following human of heart transplantation: evidence for functional enenervation / [Fallen E.L., Kamath M.V., Chista D.N., Fitchelt D] // J. Auton. Nerv. Syst. – 1988. – V. 23. – P. 199.
15. Neurological control. of fetal heart ratele in 20 cases of anencephalic fetuses / [Terao T., Kawashima У, Noto H.] // Amyk. J. Obstet. Gynecol. – 1984. – Vol. 149. – P. 201.
16. Heart rate variability in the fetus. In Heart rale variability / [Hirsich M., Karin J., Akserod S.] // Armonk. N.Y. Futura Publisching Company. Inc. – 1995. – P. 517.
17. Richter D. W., Spyer K. M. Cardiorespiratory control: Central regulation of autonomic functions. – N.Y.: Oxford Univ. Press, 1990. – P. 189-207.
18. Respiratory sinus arrhythmia and central respiratory drive in humans / [Al-Ani M., Forkins A.S., Townend J.N., Coote J.H] // Clin. Sci (Colch). – 1996. – Vol. 90, N 3. – P. 235-41.
19. Karemaker J.M. Analysis of blood pressure and heart rate variability: theoretical consideration and clinical applicability // Clinical autonomic disorders. Evaluation and management / Ed. P. A. Low. – Boston etc.: Little Brown and Co., 1993. – P. 315-330.
20. Borst C., Karemaker J.M. Time delays in the human baroreceptor reflex // J. Auton. Nerv. Syst. – 1983. – Vol. 9. - N 2/3. – P. 399 – 409.
21. Vascular resistance and arterial pressure low-frequency oscillations in the anesthetized dog / [Cevese A., Grasso R., Poltronieri R., Schena F].// Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 268, N 1. – P. H7-H16.
22. Оценка симпатических и парасимпатических механизмов регуляции при вегетативных пароксизмах / [Н.Б.Хаспекова, Х.К.Алиева, Г.М.Дюкова] // Советская медицина. – 1989. – № 9. – С. 25-28.
23. A novel pathophysiological phenomenon in cachexic patients with chronic obstructive pulmonary disease: the relationship between the circadian rhythm of circulation leptin and very low frequency component of heart rate variability / Takabatake N., Nakamura H., Abe S. [et al]. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – V. 163. – P. 1314.

Чуян О.М., Бірюкова О.А., Раваєва М.Ю., Никіфоров І.Р. **Індивідуальний профіль функціонального стану організму студентів з різним типом вегетативної регуляції** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 152-165.

Стаття присвячена оцінці індивідуального профілю функціонального стану організму випробовуваних з різним типом вегетативної регуляції. Показано, що випробувані-ваготоніки характеризуються найбільш високими, а симпатотоніки – низькими інтегральними показниками функціонального стану організму. Показано що виробувані-ваготоникі характеризуються найбільш високими, а симпатотоникі – низькими інтегральними показниками функціонального стану організму. Методом кластерного аналізу показана наявність різних механізмів підтримки гомеостазу і регуляції функціонального стану у випробовуваних з різним тонусом вегетативної нервової системи.

Ключові слова: варіабельность ритму серця, нормотоніки, симпатотоніки, ваготоніки, індивідуальний профіль функціонального стану.

Chuyan E.N., Biryukova E.A., Ravaeva M.Y., Nikiforov I.R. **The individual profile of a functional state of an organism of examinees with various type of vegetative regulation** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 152-165.

The article is devoted an estimation of an individual profile of a functional state of an organism of examinees with various type of vegetative regulation. At subjects with vagal predominance - the highest, with sympathetic predominance – low integrated indicators of a functional state of an organism is shown. By the claster analysis method presence of different mechanisms of maintenance of a homeostasis and regulation of a functional condition at examinees with a different tone of vegetative nervous system is shown.

***Keywords*:** heart rate variability, subjects with vagal predominance, subjects with sympathetic predominance, normal subjects, the individual profile of a functional state.

Поступила в редакцию 28.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 166-174.

УДК: 612.135-055.1:378

ОСОБЕННОСТИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ У ЮНОШЕЙ-СТУДЕНТОВ

Чуян Е.Н., Горная О.И.

В статье описаны особенности состояния микроциркуляции крови у юношей-студентов в возрасте 17-23 лет юго-востока Украины методом лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ). По результатам исследования было выделено три типа ЛДФ-грамм с преобладанием гиперемического типа.

Ключевые слова: метод лазерной допплеровской флоуметрии, нормоемический тип, гипоемический тип, гиперемический тип.

ВВЕДЕНИЕ

Оценка состояния регуляции кожного кровотока и функциональных возможностей системы микроциркуляции является важной проблемой физиологии [1]. Как известно, микроциркуляция является структурно-функциональной единицей системы кровообращения, где происходит обмен между кровью и тканями, что обеспечивает эффективное функционирование различных клеточных структур. В настоящее время существует довольно большое число инвазивных и неинвазивных методик исследования микроциркуляци [2]. Лазерная допплеровская флоуметрия (ЛДФ) является новым неинвазивным методом исследования микроциркуляции, позволяющим не только оценить общий уровень периферической перфузии, но и выявить особенности регуляции кровотока в микроциркуляторном русле. Достоинством метода ЛДФ является его возможность измерения микрокровотока in vivo и бесконтактно, что очень важно для тестирования микрогемодинамики, которая изменяет свои показатели при любой попытке подключения датчиков к капиллярам [3]. Другой важной особенностью ЛДФ является возможность получения большого количества измерений (тысячи в минуту), их регистрации и обработки в реальном масштабе времени [4 – 6], что, в частности, позволяет создать мониторинговые системы ЛДФ. Последние, в перспективе, дают возможность анализировать весь спектр ритмических процессов в микрососудах от пульсовых до циркадных [3]. Однако данный метод в Украине только начал внедряться и еще не получил широкого развития, что связано, прежде всего, с отсутствием нормативних показателей микроциркуляции, характерных для регионов нашей страны. Поэтому исследование индивидуально-типологических особенностей показателей микроциркуляции весьма актуально, так как это позволит разработать нормативные показатели для проведения диагностики микрокровотока.

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось выявление индивидуально-типологических особенностей состояния микроциркуляции крови у юношей-студентов в возрасте 17-23 лет юго-востока Украины методом ЛДФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было обследовано 40 студентов-волонтеров мужского пола Мелитопольского государственного педагогического университета специальности «Физическая культура» в возрасте 17-23 лет, условно здоровых. ЛДФ осуществляли лазерным анализатором кровотока «ЛАКК-01» (производство НПП «Лазма», Россия) с лазерным источником излучения на длине волны 0,63 мкм. Лазерный анализатор соединен с компьютером. На экран монитора выводится кривая записи ЛДФ в реальном масштабе времени. Все записи ЛДФ-грамм сохраняются в базе данных и при необходимости переносятся на бумажный носитель.

Оценка состояния микроциркуляции крови у юношей проводилась на ладонной поверхности второго пальца левой кисти, в состоянии покоя при горизонтальном положении руки на уровне сердца в течение двух минут в первой половине дня.

В ходе исследования регистрировали и рассчитывали следующие показатели ЛДФ-сигнала:

М – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции. Этот показатель характеризует средний поток эритроцитов в единице объема ткани в зондируемом участке (перф. ед.);

σ - среднее квадратическое отклонение (СКО, флакс) амплитуды колебания кровотока от среднего арифметического значения (М) (перф. ед.);

Kv – коэффициент вариации, который характеризует соотношение между изменчивостью перфузии (флаксом) и средней перфузией в зондируемом участке тканей, измеряемый в %:

$$Kv = \frac{СКО}{M} * 100 \quad (1)$$

Важным этапом ЛДФ-метрии является амплитудно-частотный анализ гемодинамических ритмов колебаний тканевого кровотока. Амплитудно-частотный анализ производится с помощью специальной компьютерной программы. В результате спектрального разложения ЛДФ-граммы на гармонические составляющие появляется возможность судить о степени выраженности или доминировании тех или иных колебаний тканевого кровотока в тканевой гемодинамике [4, 7]. Программное обеспечение основывается на спектральном разложении ЛДФ-граммы с использованием математического аппарата Фурье. При этом амплитуда каждой гармоники автоматически определяется в диапазоне частот от 0,01 до 1,2 Гц.

При амлитудно-частотном анализе ЛДФ-граммы вычислялись амплитуда (А) миогенных метаболических колебаний в диапазоне частот от 0,01 до 0,03 Гц (1-2 колебания в минуту) (AVLF), вазомоторных колебаний в диапазоне частот от 0,05 до 0,15 Гц (4-8 колебаний в минуту) (ALF), дыхательных колебаний в диапазоне частот от 0,2 до 0,3 Гц (AHF) и пульсовых волн (ACF). Вклад различных ритмических колебаний (Р) оценивался по их мощности в процентном отношении к общей мощности спектра флаксмоций:

$$P = A_{LF}{}^2/(A_{VLF}{}^2 + A_{LF}{}^2 + A_{HF}{}^2 + A_{CF}{}^2)*100\% \quad (2)$$

Соотношение активных модуляций кожного кровотока, обусловленных миогенным и нейрогенным механизмами, и дополнительных парасимпатических влияний на него рассчитывали как индекс эффективности флаксмоций:

$$ИЭМ = A_{LF}/(A_{HF} + A_{CF}) \quad (3)$$

Оценка достоверности различий между данными, полученными в результате исследования, проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования микроциркуляторного русла у юношей-студентов определены следующие показатели: параметр микроциркуляции М в коже пальцев кисти колебался от 4,03 до 32,8 перф. ед.и в среднем составил 17,95±0,68 перф. ед. Уровень колебаний тканевого кровотока – СКО варьировал от 0,5 до 4,72 перф. ед., в среднем составляя 2,05±0,05 перф. ед. Коэффициент вариации (Kv) изменялся в диапазоне от 3,22 до 35,17% и составил в среднем 16,7±0,31% (табл.1).

Таблица 1.

Показатели микроциркуляции у испытуемых ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Средние значения / № группы	Типы микроциркуляции	Параметр микроцир-куляции, М, перф.ед.	Уровень флакса, СКО,перф.ед	Коэффициент вариации, Kv, %
		17,95±0,68	2,05±0,05	16,7±0,31
1	Апериодический тип (n=10)	14,62±0,19	2,91±0,44	20,96±2,31
2	Монотонный тип с низкой перфузией (n=4)	8,73±0,58	1,53±0,54 $p_1 \leq 0,001$	8,43±0,73 $p_1 \leq 0,001$
3	Монотонный тип с высокой перфузией (n=26)	20,76±0,36 $p_1 \leq 0,001$; $p_2 \leq 0,001$	1,72±0,13 $p_1 \leq 0,001$; $p_2 \leq 0,001$	8,61±0,64 $p_1 \leq 0,001$

Примечание: p1 – достоверность отличий по отношению к значениям показателей у испытуемых с апериодическим типом микроциркуляции по t-критерию Стьюдента; p2 – достоверность отличий по отношению к значениям показателей у испытуемых с монотонным типом с низкой перфузией.

Таким образом, у испытуемых выявлена значительная вариабельность значений изученных показателей. Поэтому интерпретация данных анализа тканевого кровотока должна проводиться с учетом характерных гемодинамических типов микроциркуляции, которые выявляются не только у больных, но и у здоровых испытуемых [3].

В качестве критериев индивидуально-типологических особенностей состояния микроциркуляции нами были выбраны основные статистические показатели, получаемые при ЛДФ-метрии, а именно М, СКО, Kv, что позволило выявить различные типы микрогемодинамики. Нами было выделено 2 типа ЛДФ-грамм с различным характером колебаний. Первый тип характеризовался высокоамплитудными апериодичными колебаниями с максимальными значениями СКО, отображающего активность колебательных процессов, и Kv, характеризуещего преимущественный вклад активных механизмов модуляции микрокровотока (рис. 1). К этому типу относилось 25% испытуемых.

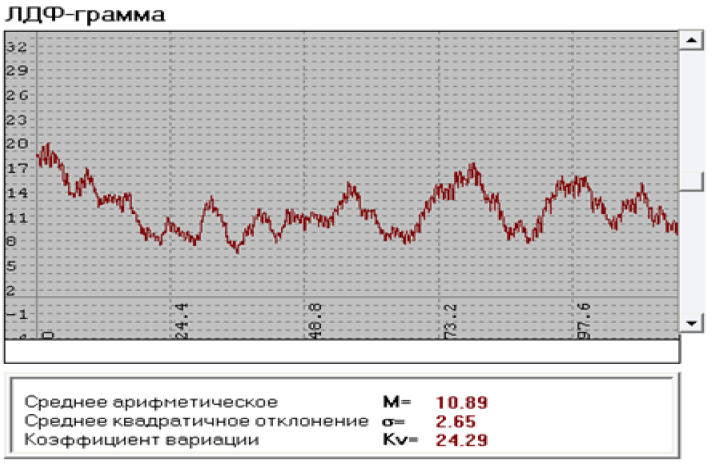


Рис. 1. Пример ЛДФ-граммы апериодического типа.

Однако большинство ЛДФ-грамм отличались монотонным характером колебаний кожного кровотока, о чем свидетельствуют низкие показателями СКО и Kv (табл. 1). К этому типу относились 75% испытуемых. При этом в монотонном типе ЛДФ-грамм наблюдался большой разброс данных по величине перфузии (М), что позволило нам разделить этот тип еще на два подтипа: монотонный с низкой перфузией (8,73± 0,58 перф. ед.), который наблюдался у испытуемых в 10% случаев (рис. 2) и с высокой перфузией (20,76 ± 0,36 перф. ед.), который отмечался у 65% испытуемых (рис. 3).

Таким образом, в результате исследования у испытуемых выделено три типа ЛДФ-грамм (рис. 4), отличных друг от друга по величине перфузии, так и по уровню флакса и Kv, а именно: апериодический тип, монотонный тип с низкой перфузией и монотонный тип с высокой перфузией.

Для количественной оценки периодических процессов в системе микроциркуляции крови у испытуемых применяли спектральный анализ ЛДФ-грамм, физиологический смысл которого состоит в анализе соотношения различных ритмических составляющих колебаний тканевого кровотока, по которым можно судить о состоянии регуляторных влияний на кровоток в микрососудах [7 – 8].

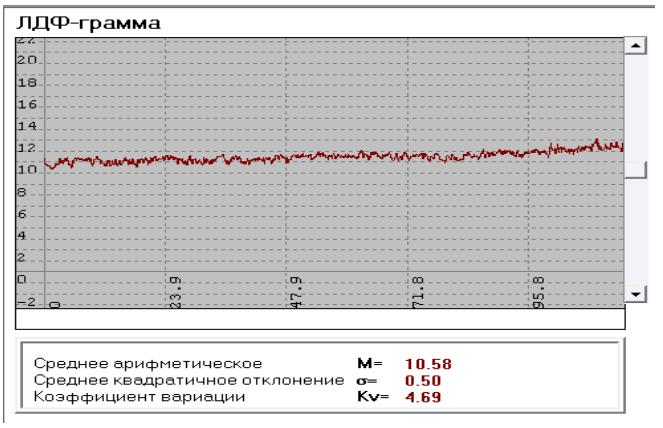


Рис. 2. Пример ЛДФ-граммы монотонного типа с низкой перфузией.

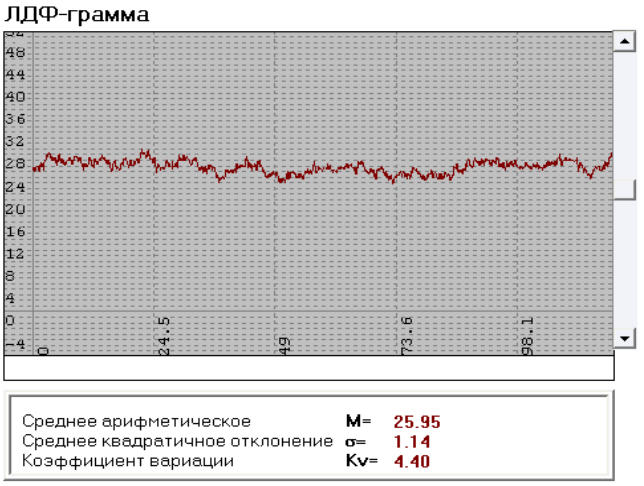


Рис. 3. Пример ЛДФ-граммы монотонного типа с высокой перфузией.

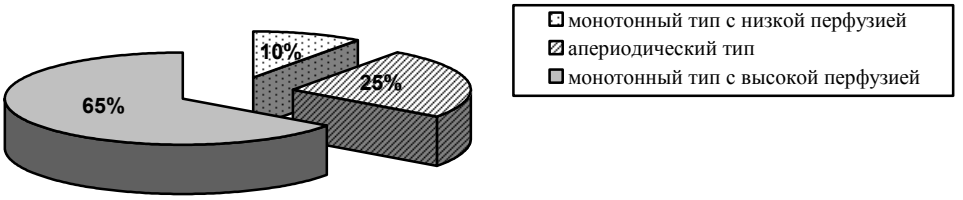


Рис. 4. Диаграмма встречаемости различных типов микроциркуляции у испытуемых (в % от общего числа обследованных).

У испытуемых с апериодическим типом наиболее существенный вклад в общую мощность спектра вносил VLF- компонент, который в наибольшей степени

отражает функцию эндотелия и составил 54,1% (рис. 5). Вклад LF- компонента в структуру ритмических колебаний микрокровотока составил 41,6%. Высокочастотные дыхательные и пульсовые колебания кровотока занимали значительно меньшую долю в общем спектре и составили 3,7% и 0,6% соответственно, что указывает на умеренный приток крови в капиллярное русло и своевременный отток периферической крови. Следовательно, данный тип ЛДФ-граммы характерен для сбалансированного состояния механизмов, «активной» (связанной с симпатическими влияниями) и «пассивной» (связанной с парасимпатическими влияниями) регуляции колебаний тканевого кровотока. Этот вывод подтверждается высоким значением ИЭМ, который составил в данной группе 1,86±0,3 (рис.6). Следовательно, испытуемых с апериодическим типом ЛДФ-граммы можно отнести к нормоемическому типу микроциркуляции [9].

Спектральные характеристики ЛДФ-грамм у испытуемых со вторым типом микроциркуляции, который характеризовался сравнительно низкими параметрами перфузии и относительно монотонным характером флаксмоций, отличались самым высоким значением вклада очень низкочастотных колебаний, а именно 60,1% от общей мощности спектра, что на 6% больше, чем у VLF-компонент у испытуемых с апериодическим типом (р.≤0,05) (рис. 5). Однако у испытуемых с этим типом микроциркуляции в сравнении с апериодическим типом ЛДФ-граммы наблюдался существенно меньший вклад вазомоторных колебаний – 32,0%, что свидетельствует о повышенном тонусе микрососудов. Высокочастотные колебания характеризуются небольшим увеличением вкладов дыхательных ритмов (6,9%) и пульсовых ритмов (1,0%) в общую мощность спектра флаксмоций по сравнению с апериодическим типом (3,7% и 0,6%) (р≤0,01) (рис.5). Такое соотношение характеристик спектрального анализа обусловило и значение ИЭМ, равное 1,84±0,06 (рис. 6).

Таким образом, для данного типа микроциркуляции характерно преобладание симпатического звена в регуляции тканевого кровотока. Следовательно, этот тип микроциркуляции характеризуется увеличением сосудистого тонуса и соответствует гипоемическому или спастическому типу микроциркуляции [4].

В спектральном анализе ЛДФ-грамм у испытуемых с монотонным типом высокой перфузией максимальный вклад в общую мощность спектра отмечен со стороны VLF-колебаний (53,8%) и LF-колебаний (38,5%), что на 3,1% меньше, чем у испытуемых с апериодическим типом (р≤0,01).Вклад дыхательных волн в мощность амплитудно-частотного спектра не изменился по сравнению с предыдущим типом и составил 6,9% в то время как у испытуемых с апериодическим типом ЛДФ-грамм составил 3,7%, что на 3,2% больше по отношению к монотонным типам с низкой и высокой перфузией. Индекс эффективности флаксмоций у испытуемых этой группы оказался самым низким и составил 1,76±0,2 (рис. 6). Анализ значений изученных показателей позволяет предположить, что данный тип ЛДФ-граммы соответствует гиперемическому состоянию, наблюдаемому в случае увеличения притока крови в систему микроциркуляции, связанную с некоторой дилатацией микрососудов [10, 11], обусловленной относительным ослаблением в регуляции тканевого кровотока со стороны симпатических влияний.

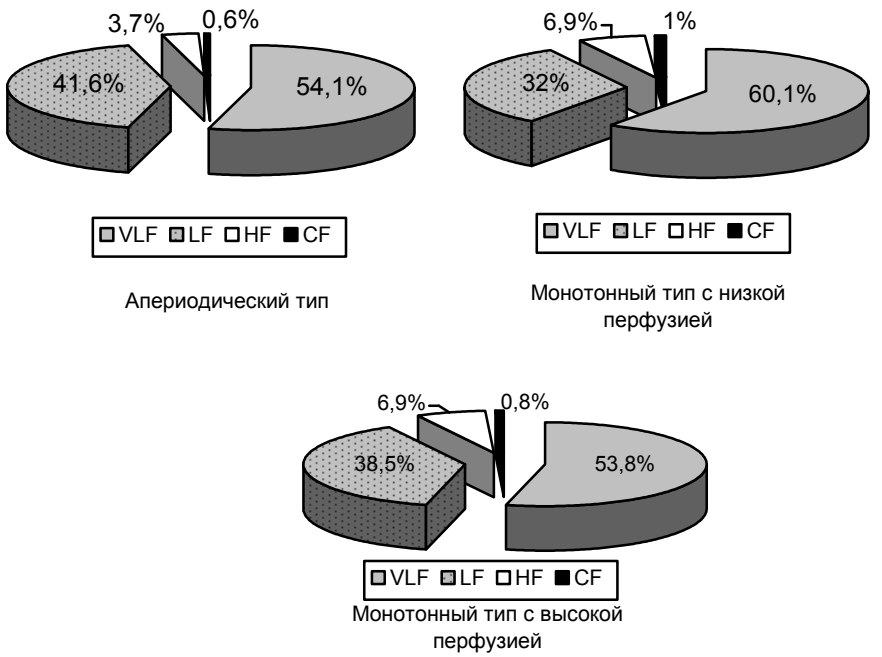


Рис. 5. Вклад частотных компонентов в общую мощность спектра осцилляций тканевого кровотока у испытуемых с различными типами ЛДФ-грамм (в %).

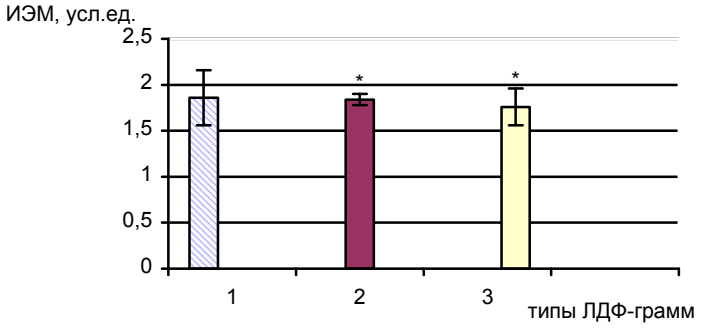


Рис. 6. Индекс эффективности микроциркуляции у испытуемых трех типов микрогемодинамики.

Примечание:

1 – апериодический тип; 2 – монотонный тип с низкой перфузией; 3 – монотонный тип с высокой перфузией.

*- $p \leq 0,05$, достоверность отличий по отношению к апериодическому типу, по t-критерию Стьюдента;

Таким образом, существенный разброс значений изученных показателей ЛДФ-грамм позволили выделить среди обследованных юношей три типа

микроциркуляции: нормоемический, при котором наблюдается “апериодическая» ЛДФ-граммма; гиперемический, которому соответствует «синусоидальная» ЛДФ-грамма [11] с высоким показателем микроциркуляции; и гипоемический тип, при котором выявлена «монотоннонизкоамплитудная» ЛДФ-грамма с низким показателем микроциркуляции.

ВЫВОДЫ

1. Дифференцированный анализ индивидуально-типологических особенностей микроциркуляции крови показал, что для обследованных нами юношей Мелитопольского государственного педагогического университета характерны три типа микроциркуляции: апериодический (25% испытуемых),монотонный с низкой перфузией (10% испытуемых) и монотонный с высокой перфузией (65% испытуемых).
2. Апериодический тип ЛДФ-грамм характеризуется средним значением перфузии (14,62 перф.ед.), однако более высокими показателями СКО (2,91 перф. ед.) и Kv (20,96%), что свидетельствует о преобладании активных механизмов модуляции тканевого кровотока и подтверждается доминированием эндотелиальных (54,1%) и вазомоторных (41,6%) колебаний в общей мощности спектра и умеренным вкладом высокочастотных (3,7%) и пульсовых колебаний (0,6%), что позволяет считать этот тип микрогемодинамики наиболее сбалансированным и соответствовать нормоемическому типу микроциркуляции.
3. Монотонная с низкой амплитудой ЛДФ-грамма характеризуется относительно монотонной кривой при низких значениях перфузии (8,73 перф. ед.), уровня флакса (1,53 перф. ед.) и Kv (8,43%), что свидетельствует о невысокой степени модуляции микрокровотока. Данные частотно-амплитудного анализа указывают на преобладание эндотелиального компонента (60,1%) в регуляции тканевого кровотока и характеризуются умеренным вкладом вазомоторных (32,0%), дыхательных (6,9%) и пульсовых (1,0%) колебаний в общую мощность спектра, что свидетельствует о преобладании симпатического звена в регуляции тканевого кровотока, поэтому данный тип соответствует гипоемическому (спастическому) типу микрогемодинамики.
4. Монотонная с высокой амплитудой ЛДФ-грамма характеризуется относительно высоким показателем перфузии 20,76 перф. ед., средним значением уровня флакса 1,72 перф. ед. и Kv 8,61%. Анализ ритмограмм выявил увеличение вклада вазомоторных (38,5%) колебаний и практически не изменились показатели высокочастотных дыхательных и кардиоритмических колебаний (6,9% и 0,8% соответственно), что позволяет отнести данный тип ЛДФ-грамм к гиперемическому типу микрогемодинамики.

Список литературы

1. Литвин Ф.Б. Лазерная допплеровская флоуметрия в оценке возрастных особенностей микроциркуляции при постуральной пробе / Ф.Б.Литвин, И.П.Аносов // Материалы III Всерос. симп..: применение лазерной допплеровской флоуметрии в медицинской практике. –М., 2000. – С. 80-84.

2. Маколкин В.И. Микроциркуляция в кардиологии / В.И Маколкин, В.И. Подзолков, В.В.Бранько // – М.: Визарт, 2004. – С.3.
3. Козлов В.И. Лазерная допплеровская флоуметрия и анализ коллективных процессов в системе микроциркуляции / В.И. Козлов, Л.В.Корси, В.Г.Соколов // Физиология человека. – 1998. – Т. 24. - №6. – С. 112.
4. Bonner R.F. Modal for Laser Doppler measurements of blood flow in tissue microcirculation / R.F.Bonner, R.Nossal // Appl. Optics.- 1981. – V. 20. – P. 2097.
5. Арефьев И.М. Метод спектроскопии оптического смещения в диагностике микроциркуляции крови / И.М.Арефьев, Л.П.Еськов // Бюлл. Эксперим. Биологии и медицины. – 1981. - №2. – С.244.
6. Hoffman U. The freaquency histogram – A new method for the evaluation of Laser Doppler Flux Motion/ U. Hoffman, A. Yanar, A. Bolinger // Microvascul. Res/ – 1990. – V. 40. – P. 293-301.
7. Schmid-Schonbein H. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion / H. Schmid-Schonbein, S. Ziege // Inter. F. Microcircul. – 1997. – V. 17. – P. 346-359.
8. Zweifach B. Functional behavior of the microcirculation / B. Zweifach // Springfield, Illinois, 1961. – P. 23-67.
9. Козлов В.И. Метод лазерной допплеровской флоуметрии, / В.И.Козлов, Э.С.Мач, Ф.Б.Литвин, О.А.Терман [и др] // Пособие для врачей, М., 2000, С. 9-13.
10. Крупаткин А.И. Лазерная допплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / А.И.Крупаткин, В.В. Сидоров // –М.: Медицина. – 2005 – 254с.
11. Козлов В.И. Индивидуально-типологические особенности микроциркуляции у человека / В.И.Козлов, Ф.Б. Литвин, Т.И. Станишевская, М.В. Морозов // Biomedical and biosocial antropology 2007. – № 9, С.249-250.

Чуян О.М., Горна О.І. **Особливості мікроциркуляції крові у юнаків-студентів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 166-174.

У статті описані особливості стану мікроциркуляції крові у юнаків-студентів 17-23 років південного сходу України, методом лазерної доплеровської флоуметрії (ЛДФ). За результатами дослідження було виділено три типи мікроциркуляції крові з перевагою гіперемічного типу.

Ключові слова: метод лазерної доплеровської флоуметрії, нормоемічний тип, гіпоемічний тип, гіперемічний тип.

Chuyan E.N., Gornaya O.I. **The peculiarities of youths-students' blood microcirculation** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 166-174.

The article is devoted to the peculiarities of youth-students' blood microcirculation state by means of laser Doppler flowmeasuring (LDF). The author defines three basic types of blood microcirculation with the predominance of hyperaemic type.

Keywords: method of laser doppler flowmeasuring, normoemic type, hyperaemic type, hypoemic type.

Поступила в редакцию 20.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 175-193.

УДК 612.821

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЦЕССОВ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ ВО ВРЕМЯ ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Чуян Е.Н.. Трибрат Н.С., Раваева М.Ю., Древетняк Н.А.

Показано, что в процессе однократного воздействия мм-волн происходит изменение показателей микроциркуляции в области непосредственного локального КВЧ-воздействия. Выявлено, что в области КВЧ-воздействия происходит перераспределение потока крови в пользу доминирования нутритивного кровотока. Показано, что первыми на воздействие ЭМИ КВЧ реагируют тонус-зависимые компоненты регуляции микроциркуляторного русла.

Ключевые слова: низкоинтенсивное электромагнитное излучение крайне высокой частоты, микроциркуляция крови, метод лазерной доплеровской флоуметрии.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что электромагнитные излучения (ЭМИ) различных диапазонов обладают выраженной биологической активностью, в частности способствуют изменению процессов микроциркуляции. Однако сведения, представленные в литературе по этому вопросу весьма немногочисленны и крайне противоречивы. Так, ряд работ свидетельствует о вазодилататорном эффекте влияния ЭМИ [1], другие сообщают о вазоконстрикторном действии [2]. Существуют и такие исследования, в которых не было отмечено изменения перфузии [3]. Эти противоречия и невоспроизводимость результатов, вероятно, связаны с рядом факторов. Во-первых, известно, что величина биологического эффекта, или биотропность, связана с параметрами ЭМИ (частота, интенсивность, экспозиция, модуляция). Во-вторых, биологическая эффективность ЭМИ зависит от биологического объекта: ткани и органы человека и животных *in vitro* [4], организма – *in vivo*. Однако следует отметить, что в полной мере чувствительность к ЭМИ проявляется только у целостных организмов и значительно снижается у изолированных органов и тканей [5]. В-третьих, указанные противоречия могут быть вызваны с использованием различной измерительной аппаратуры для оценки показателей микроциркуляции и, как следствие, различными исследуемыми параметрами капиллярного кровотока. Кроме того, при изучении влияния ЭМИ на капиллярный кровоток во многих исследованиях применялись инвазивные методы исследования микроциркуляторного русла, что потребовало фиксирования исследуемого объекта и/или дополнительного применения различных анестетиков, которые, в свою очередь, вполне могли исказить ответ со стороны капиллярного кровотока на действие ЭМИ. Таким образом, исследования, посвященные влиянию ЭМИ на микроциркуляторное русло, являются трудновоспроизводимыми и

несопоставимыми. Отсюда и большой процент скептицизма среди ученых в отношении терапевтического использования ЭМИ.

Обращает на себя внимание и тот факт, что подавляющее большинство исследований проводилось после воздействия ЭМИ [6]. Во многом это обусловлено методическими трудностями, связанными как с использованием инвазивных или косвенных методов измерения показателей микрокровотока, так и вмешательством сигналов со стороны ЭМИ на измерительную аппаратуру, что требует разделения во времени облучения ЭМИ и регистрации микроциркуляторного ответа. Вместе с тем, регистрация изменений процессов микроциркуляции, происходящих непосредственно во время облучения ЭМИ, способствовала выявлению времени возникновения и характера, что могло бы привнести определенный вклад в более глубокое понимание механизмов биологического действия этого физического фактора. Поэтому актуальным является поиск нового методического подхода, позволяющего проводить исследования микроциркуляции крови во время облучения ЭМИ. Поставленная задача может быть реализована в случае применения в экспериментальной работе низкоинтенсивного ЭМИ, которое не оказывает влияния на формирование сигналов измерительной аппаратуры, в частности, использования низкоинтенсивного ЭМИ крайне высокочастотного (КВЧ) или миллиметрового (мм) диапазона, которое, как было показано в наших предыдущих исследованиях [7], при курсовом применении оказывает выраженное влияние на процессы микроциркуляции.

Среди измерительных методов, не оказывающих влияние на течение микроциркуляторных процессов, признаны оптические методы исследования кровотока [8]. В настоящее время большую популярность в клинической и экспериментальной практике приобретает метод лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ), позволяющий неинвазивно получить информацию как о параметрах перфузии микрососудов, так и о их регуляции со стороны активных и пассивных механизмов [9]. Особое значение имеет тот факт, что проникающая способность КВЧ-излучения (до 1 мм внутрь кожи) и лазерного луча при оптическом зондировании методом ЛДФ (1 мм^3) практически совпадают, что позволяет считать данный метод наиболее предпочтительным для выявления биологических эффектов мм излучения в микроциркуляторном русле. В связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось изучение изменений процессов микроциркуляции во время действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ методом ЛДФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 20 студентов-волонтеров женского пола в возрасте 18-20 лет, условно здоровых. Все испытуемые подвергались однократному экспериментальному действию низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ с помощью терапевтического генератора «КВЧ. РАМЕД. ЭКСПЕРТ-01» (длина волны = 7,1 мм, плотность потока мощности – 0,1 мВт/см^2) (регистрационное свидетельство № 783/99 от 14.07.99, выданное КНМТ МОЗ Украины о праве на применение в медицинской практике в Украине). Воздействие осуществлялось однократно в течение 30 минут, волновод накладывался на область биологически активной точки

(БАТ) GI-4 правой руки (рис. 1), поскольку как показано в наших [10] и других исследованиях [11], существует функциональная асимметрия, связанная с тем, что биологические эффекты ЭМИ КВЧ более выражено при воздействии на правую руку (правый плечевой устав).

Известно, что точки акупунктуры как локальные кожные образования, имея определенную структуру, и, обладая определенными функциональными и биофизическими свойствами, выполняют сенсорную функцию и запускают сложные рефлекторные механизмы [12]. Современные анатомо-морфологические исследования кожи в области БАТ показали присутствие здесь сосудов микроциркуляторного русла, инкапсулированных миелинизированных нервных окончаний, соединительной ткани с высоким содержанием тучных клеток, тканевых базофилов, богатых гранулами [13], т.е. тех образований, которые и являются основными мишенями для мм-волн [14]. Кроме того, выбор точки GI-4 обусловлен тем, что данная точка является одной из основных общеукрепляющих БАТ, причем стимуляция данной точки регулирует работу центральной и вегетативной нервных систем, в частности управляет артериальным давлением, сердечным ритмом [12].

В целях изучения изменения процессов микроциркуляции крови под влиянием КВЧ-воздействия использовался метод ЛДФ, основанный на оптическом зондировании тканей монохроматическим излучением и анализе частотного спектра сигнала, отраженного от движущихся эритроцитов. ЛДФ-метрию осуществляли лазерным анализатором кровотока «ЛАКК-02» во втором исполнении (производство НПП «Лазма», Россия) с двумя источниками лазерного излучения, работающими на длине волны 0,8 мкм, причем один из ЛДФ-зондов фиксировался в области БАТ GI-4 левой руки (контрольно-измерительная точка (КИТ)), а второй – на области БАТ GI-4 правой руки (экспериментально измерительная точка (ЭИТ)) – область воздействия ЭМИ КВЧ (рис. 1, А).

Известно, что регистрация биофизических показателей в репрезентативных точках акупунктуры предоставляет информацию как об исходном функциональном состоянии организма, так и об изменениях, происходящих в процессе применения ЭМИ КВЧ [15].

Испытуемые во время исследования находились в положении лежа. Исследование состояния микроциркуляции проводили в течение 50-ти минут. Этот временной период включал в себя 10-тиминутную фоновую запись ЛДФ-граммы (до КВЧ-воздействия), последующую 30-тиминутную запись ЛДФ-граммы непосредственно во время КВЧ-воздействия и регистрацию эффекта последействия сразу после облучения мм-волнами в течение 10-ти минут (рис. 1, Б.). Зарегистрированная во время действия ЭМИ КВЧ 30-тиминутная ЛДФ-грамма, была разделена на три 10-тиминутных интервала с целью дальнейшей детальной обработки осцилляций тканевого кровотока в разные временные периоды КВЧ-воздействия.

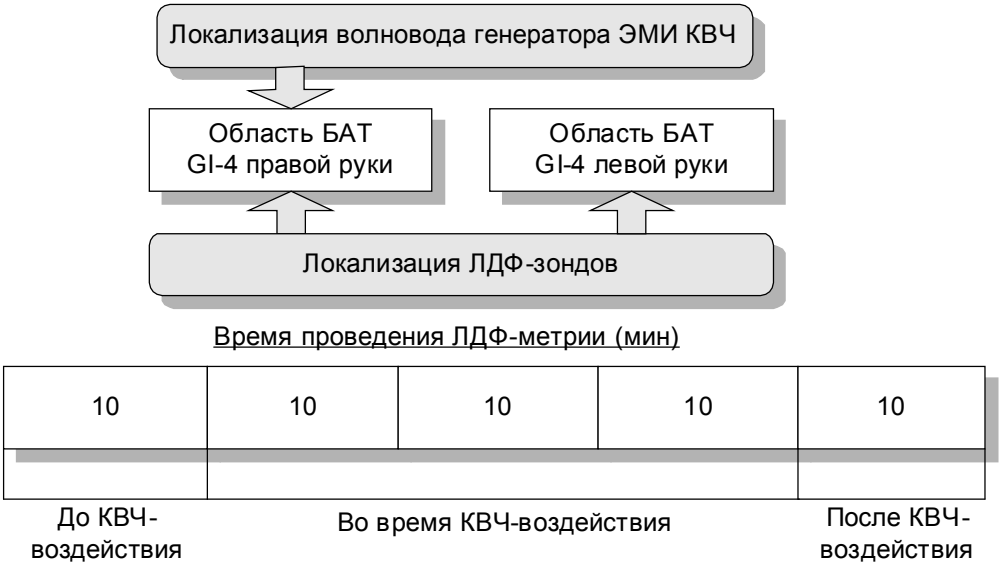


Рис. 1. Схема наложения КВЧ-волновода и ЛДФ-зондов (А) и времени проведения ЛДФ-метрии (Б).

В целях изучения изменения процессов микроциркуляции исследовали следующие показатели базального кровотока:

М (перф.ед.) – показатель микроциркуляции, характеризующий общую (капиллярную и внекапиллярную) усредненную стационарную перфузию микрососоудов за время исследования [16];

СКО (σ, перф.ед.) – среднее квадратичное отклонение амплитуды колебаний кровотока во всех частотных диапазонах от среднего М, отражающее вариабельность тканевого кровотока;

Кв (%) – коэффициент вариации, который вычисляли по формуле:

$$К_в = СКО/М*100\% \quad (1)$$

Метод ЛДФ представляет уникальные диагностические возможности оценить микрососудистый тонус, применяя амплитудно-частотный анализ колебаний кровотока [17].

С помощью вейвлет-анализа, позволяющего более точно оценить усредненную максимальную амплитуду низкочастотных осцилляций [18] определяли нормированные по σ амплитуды колебаний кровотока разных частотных диапазонов (табл. 1), которые связаны с активными и пассивными механизмами регуляции микрокровотока. Величины нормированных амплитуд рассчитывали по формуле:

$$А_{норм} = А/3\sigma\ , \quad (2)$$

где А – амплитуда колебаний в любом диапазоне от 0,02 – 2 Гц [9].

Нейрогенный тонус резистивных микрососудов (НТ), отображающий активность α-адренорецепторов мембраны ключевых и отчасти сопряженных

гладкомышечных клеток рассчитывали по формуле:

$$НТ = \frac{\sigma \cdot Рср}{Ан \cdot М}, \quad (3)$$

где - среднее квадратичное отклонение показателя микроциркуляции, Рср – среднее артериальное давление, Ан – наибольшее значение амплитуды колебаний перфузии в нейрогенном диапазоне.

Таблица 1.

Амплитудно-частотные характеристики осцилляций кожного кровотока

Механизмы регуляции микрокровотока	Название основных ритмов колебаний тканевого кровотока	Частотный диапазон	Физиологическое значение
Пассивные	Пульсовые волны (сердечные волны, cardio frequency), Ас	0,8-0,16 Гц [9, 22]	Присутствуют как в приносящем звене микрососудистого русла, так и в капиллярах. Их амплитуда отражает перфузионное давление в микрососудах, обусловленное как сердечным выбросом, перепадами систолического и диастолического давления, так и влиянием постакпиллярного сопротивления [19].
	Дыхательные волны (респираторно-связанные колебания, high frequency), Ад	0,15-0,4 Гц [9]	Связаны с дыхательной модуляцией венулярного кровотока, так и с респираторными влияниями на вегетативное обеспечение деятельности сердца. [19]
Активные	Эндотелиальные колебания, Аэ	0,0095-0,02 Гц [19]	Обусловлены секреторной активностью эндотелия, а именно выбросом вазодилататора NO [20].
	Нейрогенные колебания, Ан	0,02-0,046 Гц [21, 17]	Связаны с симпатическими адренергическими (в основном терморегуляторными) влияниями на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артериоло-венулярных анастомозов [17, 21].
	Миогенные колебания, Ам	0,07-0,15 Гц [22]	Обусловлены внутренней активностью прекапилярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол [19]

Миогенный тонус (МТ) метартериол и прекапиллярных сфинктеров определяли следующим образом:

$$МТ = \frac{\sigma \cdot Рср}{Ам \cdot М}, \quad (4)$$

где Ам – наибольшее значение амплитуды колебаний перфузии в миогенном диапазоне.

Кроме того, для оценки шунтового кровотока использовали показатель шунтирования (ПШ), который вычислялся по формуле:

$$ПШ = МТ/НТ = А_н/А_м \quad (5)$$

Одним из недостатков показателей микроциркуляции, выявляемых методом ЛДФ-метрии, является то, что они характеризует общую микрососудистую перфузию, а не только ее транскапиллярный нутритивный компонент. Это ограничивает использование и затрудняет трактовку показателей ЛДФ в клинико-физиологических исследованиях. Поэтому были предложены формулы для расчета объемных показателей микрокровотока, используя данные метода ЛДФ [9]. Причем при сравнении объемных показателей, рассчитанных на основе показателей ЛДФ-метрии, с результатами капилляроскопии показана достоверная положительная корреляция [16], что позволяет использовать объемные параметры ЛДФ в экспериментальной и клинической практике.

Оценивали следующие объемные показатели микроциркуляции: общий объемный кровоток (ООК, перф.ед./мм.рт.ст.), объемный нутритивный кровоток (ОНК, перф.ед./мм.рт.ст), объемный шунтовой кровоток (ОШК, перф.ед./мм.рт.ст.) по следующим формулам:

$$ООК=(М*А_{макс}*А_с)/СКО, \quad (6)$$

где Амакс – максимальное значением амплитуды осцилляций тканевого кровотока в активном диапазоне, Ас – наибольшее значением амплитуды пульсовых колебаний;

$$ОНК=ООК/ПШ \quad (7)$$

$$ОШК=ООК-ОНК \quad (8)$$

Для сглаживания влияния исходного уровня значений исследуемых показателей микроциркуляции на их изменение при действии ЭМИ КВЧ оценивали величину сдвига зарегистрированных величин к фоновым значениям, рассчитывая коэффициент сдвига (К, %) по формуле:

$$К=(Х_э-Х_ф)/Х_ф*100\%, \quad (9)$$

где Хэ – значения показателей микроциркуляции, зафиксированные при действии ЭМИ КВЧ; Хф – значения показателей микроциркуляции, зафиксированные до КВЧ-воздействия.

По аналогичной формуле вычисляли коэффициент сдвига значений каждого показателя микроциркуляции в ЭИТ по отношению к значениям, зарегистрированным в области КИТ:

$$К=(К_{эит}-К_{кит})/К_{кит}*100\% \quad (10)$$

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета «STATISTICA 5.5». Оценка достоверности для внутригрупповых различий осуществлялась с использованием критерия Вилкоксона, для сравнения межгрупповых различий – с использованием критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первые 10 мин ЛДФ-метрии в области КИТ не было зарегистрировано достоверных изменений за исключением снижения уровня СКО на 5,56 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с фоновым значением данного показателя (рис. 2). Так как СКО отражает вариабельность тканевого кровотока, уменьшение значения данного показателя свидетельствует о снижении модуляции кожной микроциркуляции в области КИТ, что может быть связано с длительным положением покоя, в котором находились испытуемых.

Совершенно другие изменения показателелей микроциркуляции по отношению к исходным значениям наблюдались в области ЭИТ, на которую осуществлялось КВЧ-воздействие. В частности, было показано увеличение амплитуды миогенных колебаний на 28,21% ($p \leq 0,05$) (рис. 4), на фоне которого происходило снижение МТ и ПШ на 17,86% ($p \leq 0,05$) и 27,29% ($p \leq 0,05$) соответственно (рис. 3).

Полученные результаты свидетельствуют, что изменения показателей микроциркуляции в ЭИТ наблюдались не только по отношению к фоновым значениям, но и к значениям, зафиксированным в области КИТ (рис. 5). Следует отметить, что изменения исследуемых показателей в ЭИТ по отношению к КИТ в большинстве своем повторяли изменения, зафиксированные в области ЭИТ в сравнении с фоновыми данными. Так, было показано, что в течение первых 10-ти минут КВЧ-воздействия в области ЭИТ наблюдалось увеличение амплитуды миогенных колебаний на 36,09 ($p \leq 0,05$), на фоне которого происходило снижение МТ и ПШ на 26,28% ($p \leq 0,05$) и 32,98% ($p \leq 0,05$) соответственно.

Известно, что осцилляции миогенного диапазона отображают активность миоцитов прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол и являются ведущим механизмом регуляции числа функционирующих кожных капилляров [19, 23]. Кроме того, выявлена положительная корреляция числа функционирующих капилляров, по данным капилляроскопического исследования, с амплитудой миогенных колебаний по ЛДФ-метрии [16]. Поэтому увеличение данного показателя свидетельствует об увеличении числа функционирующих капилляров, вазодилатации прекапилляров, и, как следствие, [16], усилении нутритивного кровотока. Подтверждение этому является снижением МТ, который является последним звеном контроля микрокровотока перед капиллярным руслом [9], следовательно, снижение данного показателя, наблюдавшееся в первые 10 мин КВЧ-воздействия, указывает на преобладание нутритивного кровотока. В связи с этим, закономерным явилось и снижение ПШ, отражающего относительную долю шунтового кровотока в общей локальной гемодинамике, отмечавшееся в этот же временной период.

Таким образом, результаты, полученные во время 10-тиминутного КВЧ-воздействия в области ЭИТ в сравнении с данными, зарегистрированными в области КИТ указывают на доминирование нутритивного кровотока. О целенаправленном движении крови в нутритивное звено свидетельствует и достоверное снижение объемного параметра - ОШК на 94,81% ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям соответствующих показателей, зарегистрированных в области КИТ.

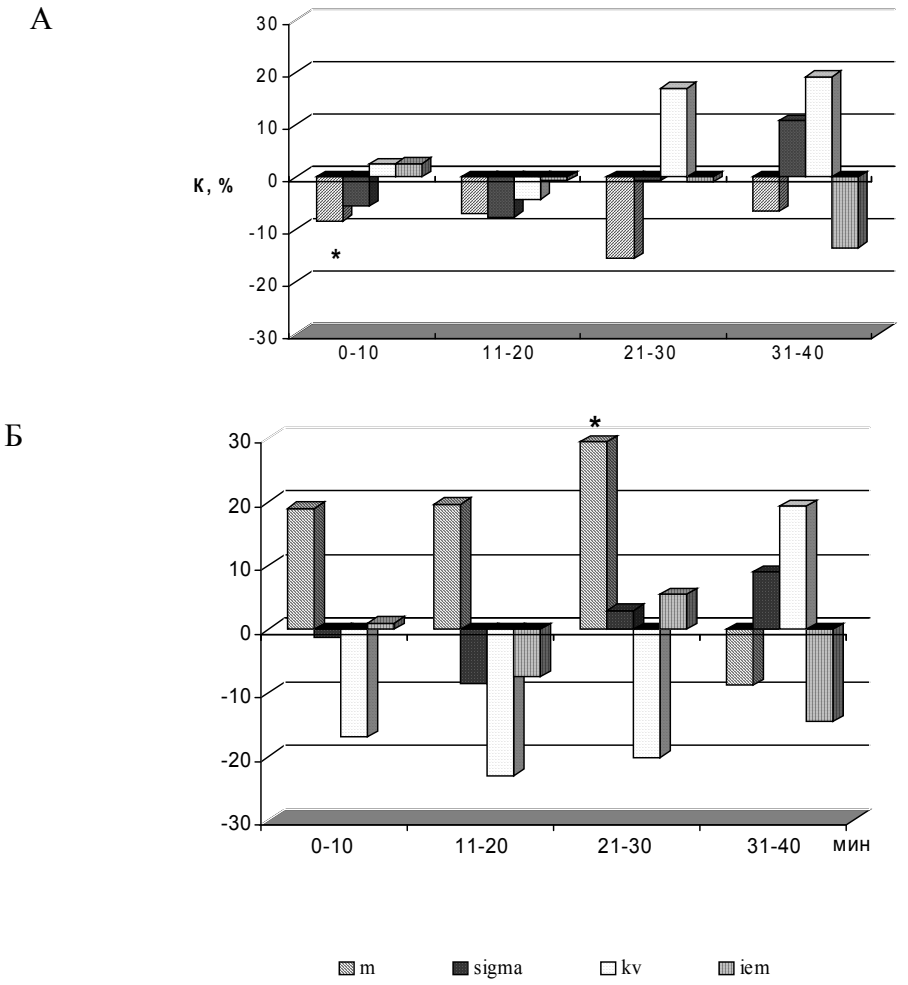


Рис. 2. Коэффициент сдвига (К, %) показателей базального кровотока в области контрольной (А) и экспериментальной (Б) БАТ относительно значений, зарегистрированных до КВЧ-воздействия.

Примечание:

*- достоверность различий ($p \leq 0,05$) в области ЭИТ относительно значений, зарегистрированных до КВЧ-воздействия по критерию Вилкоксона

Следовательно, в первые 10 минут КВЧ-воздействия наблюдалось увеличение амплитуды миогенных колебаний на фоне снижения МТ и ПШ, что свидетельствует о вазодилатации и увеличении количества функционирующих капилляров и, как следствие, перераспределении крови в нутритивное русло.

При дальнейшем исследовании в период с 10-ой по 20-ую мин в области КИТ

достоверных изменений не было обнаружено, в то время как в области ЭИТ правой руки были зафиксированы изменения относительно фоновых значений. В частности, наблюдалось снижение МТ и ПШ на 7,72% ($p \leq 0,05$) и 12,88% ($p \leq 0,05$), что на 10,14% и 14,41% меньше, чем снижение значений данных показателей в первые 10 мин соответственно (рис. 3). Наряду с этим, происходило увеличение амплитуды миогенных колебаний на 15,51% ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходными значениями, зафиксированными в ЭИТ (рис. 4).

В то же время в ЭИТ наблюдалась активация иного регуляторного компонента – амплитуд осцилляций эндотелиального генеза, которые в среднем увеличивались на 18,85% ($p \leq 0,05$) по отношению к данным этого показателя в области КИТ (рис. 3).

Известно, что медленные колебания вблизи 0,01 Гц обусловлены выделением эндотелием сосудов оксида азота (NO) [20], обеспечивающего физиологическую регуляцию тонуса гладких мышц сосудов и играющего важную роль в регуляции давления и распределении потока крови.

Временные интервалы	области локализации	НТ	МТ	ПШ
0-10 мин	КИТ	↓	↑	↑
	ЭИТ	↑	⇩▨	⇩▨
10-20 мин	КИТ	↓	↑	↑
	ЭИТ	↑	⇩	⇩
20-30 мин	КИТ	↓	↑	⇧
	ЭИТ	↓	▨	⇩▨
40-50 мин	КИТ	↓	↓	↓
	ЭИТ	↓	▨	↑

Рис. 3. Схема изменения тонусов микроциркуляции в обследуемых областях в разные временные интервалы.

Примечание:

↓,↑- – тенденция к изменению показателей микроциркуляции во время эксперимента

▨▨ – достоверные изменения показателей микроциркуляции ($p_2 \leq 0,05$), зарегистрированные в ЭИТ по отношению к КИТ во время КВЧ-воздействия.

⇩⇧ – достоверные изменения показателей микроциркуляции ($p_2 \leq 0,05$), по отношению к фоновым значениям как в области КИТ, так и в области ЭИТ во время эксперимента.

Таким образом, с 10-ой по 20-ую мин воздействие мм-волнами способствовало достоверному увеличению амплитуды эндотелиальных колебаний

относительно значений этого показателя, зарегистрированного в области КИТ, и росту миогенных колебаний (рис. 5) на фоне снижение МТ и ПШ относительно исходных значений, зарегистрированных в области ЭИТ правой руки, что способствует увеличению объемных показателей.

При увеличении времени ЛДФ-метрии до 30-ти мин в области КИТ левой руки было зарегистрировано увеличение ПШ на 21,34% ($p \leq 0,05$) по отношению к фоновым значениям, что указывает на преобладание шунтового кровотока в области контрольной БАТ.

Временные интервалы	области локализации	АЭ	АН	АМ	АД	АС
0-10 мин	КИТ	↑	↑	↑	↓	↑
	ЭИТ	↓	↓	⇧⇧	↑	↓
10-20 мин	КИТ	↓	↑	↑	↓	↑
	ЭИТ	⇧	↓	⇧	↑	↑
20-30 мин	КИТ	↓	↑	↓	↑	↑
	ЭИТ	⇧⇧	↓	⇧⇧	↑	↑
40-50	КИТ	↓	↑	↑	↓	↑
	ЭИТ	↓	↑	⇧⇧	↑	↑

Рис. 4 Схема изменения амплитудных осцилляций показателей микроциркуляции в обследуемых областях в разные временные интервалы.

Примечание: подписи те же, что и в рис. 3.

В области ЭИТ правой руки были зафиксированы более значительные изменения показателей микроциркуляции по отношению к исходным данным. Так, было зарегистрировано увеличение уровня перфузии на 29,43% ($p \leq 0,05$), отражающего усредненную величину перфузии в капиллярах, артериолах и венулах. Известно, что характер изменения величины М определяется различными факторами, в частности физическими характеристиками прибора, скоростью движения эритроцитов, величиной тканевого гематокрита, а также количеством функционирующих капилляров [23]. Последнее, в частности, обуславливается вариациями изменений внутреннего диаметра сосудов, что, в свою очередь, контролируется активными механизмами контроля капиллярного кровотока, реализуемых через ее мышечный компонент [21]. Поэтому такое увеличение перфузии, вероятно, связано с максимальным увеличением вклада эндотелиальных колебаний, увеличение которых составило 39,81% ($p \leq 0,05$), а также со значительным ростом амплитуды миогенных колебаний на 26,17% ($p \leq 0,05$) относительно исходных значений этих показателей. Кроме того, в период с 20-ой по30-ую минуты наблюдалось снижение ПШ на 12,08% ($p \leq 0,05$).

Подобные изменения были зарегистрированы в ЭИТ и по отношению к значениям, зафиксированным в КИТ. Так, наблюдалось увеличение уровня

перфузии М на 23,86% ($p \leq 0,05$). Прирост амплитуд эндотелиальных и миогенных колебаний составил 39,97% ($p \leq 0,05$) и 44,06% ($p \leq 0,05$ соответственно (рис 5). Очевидно, что медленные эндотелиальные колебания, осуществляющие модуляцию мышечного тонуса сосудов секрецией в кровь периодически изменяющихся концентраций вазоактивных субстанций, в частности NO, привели к вазорелаксации, что привнесло свой вклад в увеличение уровня перфузии, наблюдавшегося в этот временной период КВЧ-воздействия. Увеличение амплитуд миогенных колебаний, в свою очередь, свидетельствует о снижении периферического сопротивления, прекапиллярной вазорелаксации и, следовательно, об увеличении количества функционирующих капилляров [9].

Следствием увеличения амплитуд миогенных колебаний явилось снижение МТ на 27,91% ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям этого показателя, зарегистрированным в области КИТ (рис. 5). Наряду с этим происходило снижение ПШ на 32,36% ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям соответствующих показателей в контрольной области.

Об увеличении нутритивного кровотока в период с 20-ой по 30-ую минуту КВЧ-воздействия свидетельствует увеличение ОНК на 70,56% ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям соответствующих показателей, зарегистрированных в области КИТ (рис. 5). Показано, что величина ОНК прямо коррелирует с капилляроскопическими параметрами - объемной скоростью венулярного отдела капилляров, средней объемной скоростью капиллярной петли в целом [16]. Указанные корреляционные связи подтверждают, что ЛДФ-показатель ОНК отражает объемную скорость кровотока в нутритивных микрососудах, увеличение которой свидетельствует об активации обменных процессов.

Следовательно, наибольшие изменения показателей микроциркуляции в зоне КВЧ-воздействия были зарегистрированы при увеличении экспозиции до 30-ти минут, что проявилось в максимальном увеличении нутритивного кровотока, вследствие усиления миогенных и эндотелиальных осцилляций микроциркуляторного русла кожи, что обусловило депрессию шунтового кровотока, и наряду с возрастанием перфузии привело к росту объемных характеристик микрогемодинамики, в частности ОНК. Указанные изменения свидетельствуют об увеличении притока крови в капиллярное русло, существенной модуляции микроциркуляторных процессов, усилению обменных процессов под влиянием мм-излучения.

Интенсификация нутритивного кровотока продолжала сохраняться и после КВЧ-воздействия, что подтверждается увеличением амплитуды миогенных колебаний в области ЭИТ не только по отношению к исходным значениям на 23,69% ($p \leq 0,05$) , но и при сравнении с данным, зарегистрированными в КИТ на 47,45% ($p \leq 0,01$). Закономерным явилось снижение МТ на 32,94% ($p \leq 0,02$) и ОШК на 93,59% ($p \leq 0,05$) по отношению к значениям соответствующих показателей, зарегистрированных в области КИТ (рис 5). В то же время в КИТ подобных изменений показателей микроциркуляции по отношению к фоновым значениям зафиксировано не было.

Таким образом, как показали результаты настоящего исследования, под

влиянием ЭМИ КВЧ происходят изменения показателей микроциркуляторного русла, что согласуется как с нашими предыдущими исследованиями [7], так и с немногочисленными литературными данными. Однако постановка эксперимента, предпринятая в данном исследовании, позволила впервые выявить изменения, происходящие в микроциркуляторном русле непосредственно во время КВЧ-воздействия.

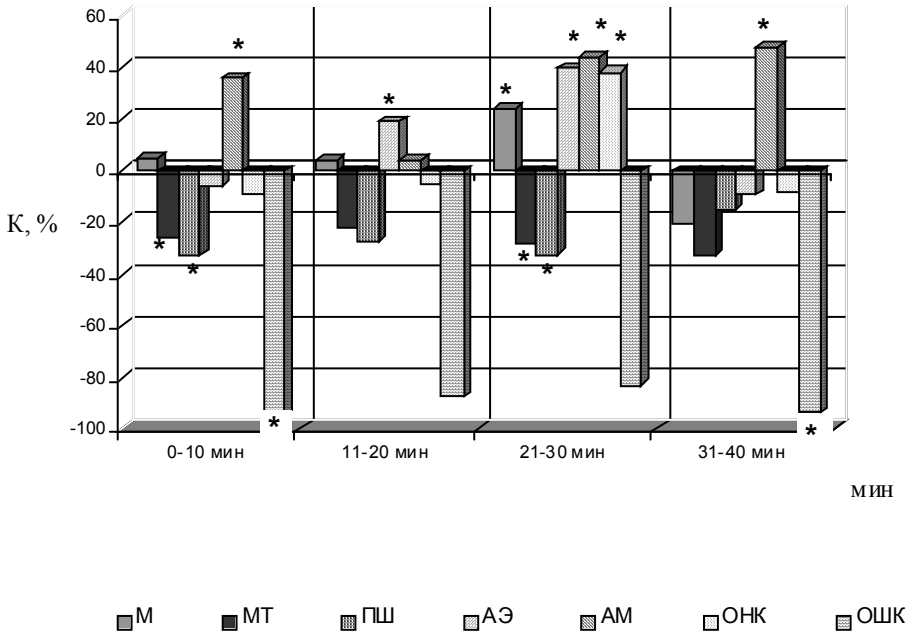


Рис. 5. Коэффициент сдвига (К, %) показателей микроциркуляции в области экспериментальной БАТ во время и после КВЧ-воздействия, относительно значений, зарегистрированным в области КИТ (приведены только достоверные различия) в разные временные периоды.

Примечание:

остальные обозначения представлены в тексте раздела «Материалы и методы»

*- достоверность различий ($p \leq 0,05$) относительно значений в области КИТ определяли по критерию Манна-Уитни.

Первая группа единичных изменений была зарегистрирована в области КИТ и имела достоверные отличия по отношению к исходным значениям. К этим изменениям относятся снижение уровня флакса, наблюдаемое в первые 10 мин исследования и увеличение ПШ, зафиксированное к 30-ой минуте. Возможно, такие изменения в области КИТ были обусловлены длительным состоянием покоя испытуемых, что привело к закрытию прекапиллярных сфинктеров.

Основные изменения показателей микроциркуляции были выявлены в ЭИТ, то есть в зоне непосредственного КВЧ-воздействия, как относительно исходных значений, так и в сравнении со значениями, изученных показателей в КИТ. Важно

отметить, что изменения, выявленные в ЭИТ носили противоположную направленность тем изменениям, которые были зарегистрированы в КИТ. В частности, в первые 20 минут воздействия мм-волнами наблюдалось увеличение нутритивного кровотока, что выразилось в снижении МТ и ПШ за счет интенсификации миогенных и эндотелиальных осцилляций. Это привело к релаксации прекапиллярных сфинктеров, снижению шунтового кровотока, как следствие, к перераспределению потока крови в нутритивное русло, что, несомненно, способствует улучшению трофической функции сосудистой системы. К 30-ой минуте КВЧ-воздействия отмечалась активация эндотелиального компонента в регуляции микрососудистого тонуса. Таким образом, максимальное увеличение амплитуд тонус-зависимого генеза наблюдалось при более продолжительном действии мм волн, что повлекло за собой не только эффект доминирования капиллярного кровотока, но и увеличение притока крови в микроциркуляторное русло в целом, что и обусловило увеличение уровня перфузии, наблюдавшееся в этот временной период, формирование которого обусловлено количеством и скоростью движения эритроцитов в различных сосудах микроциркуляторного русла. Эффект доминирования нутритивного кровотока на фоне депрессии шунтового сохранялся и после КВЧ-воздействия.

В виду того, что указанные изменения наблюдались в зоне непосредственного КВЧ-воздействия и не наблюдались в КИТ, это свидетельствует о локальном характере ответа со стороны капиллярного русла на действие данного низкоинтенсивного физического фактора.

Исходя из собственных и литературных данных механизм действия ЭМИ КВЧ на систему микроциркуляции нам представляется следующим.

В виду того, что практически всё ЭМИ КВЧ поглощается в кожных покровах на глубине до 1 мм [24 – 26], рецепция мм-волн может осуществляться образованиями, локализованными в коже, в частности, микроциркуляторной системой, которая располагается на глубине около 150 мкм [26] и поэтому попадает в область КВЧ-воздействия.

Роль кровеносных капилляров в реализации биологических эффектов ЭМИ КВЧ сводится к резонансному поглощению в них мм волн и изменению динамики протекания жидкости при одновременном уменьшении сил адгезии жидкости с внутренней стенкой капилляра [26]. При низкой интенсивности КВЧ-излучения (менее 10 мВт/см^2) интегральный нагрев облучаемых объектов в эксперименте не превышает обычно 0,1^0 С, однако даже в случае таких низких интенсивностей излучения при неоднородности удельной поглощенной мощности в плоскости объекта могут возникать микронагревы отдельных участков облучаемого объекта, которые, вероятно, и явились причиной местной реакции со стороны капиллярного кровотока на КВЧ-воздействие.

Одними из наиболее чувствительных к действию мм-волн, первыми реагирующими на локальное КВЧ-воздействие, явились миогенные осцилляции тканевого кровотока. Колебания миогенного диапазона, как правило, синусоидальные, целесообразность которых обосновывается тем, что при синусоидальном изменении мышечного тонуса сопротивление сосуда току

жидкости меньше, чем сопротивление сосуда, имеющего постоянный диаметр [22]. Следовательно, возрастание миогенных колебаний в ЛДФ-грамме свидетельствует о вазодилатации [9]. Эти данные согласуются с литературными, в которых было показано, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ приводит к вазодилатации, наблюдавшейся уже после однократного КВЧ-воздействия [24], что свидетельствует о прямом влиянии ЭМИ на гемодинамику в облученном участке.

Происхождение вазомоций в этом диапазоне связывают с локальными пейсмекерами внутри гладких мышечных волокон. Авторы A. Stefanovska, M. Bracic [19], В.И. Маколкин [23] придерживаются мнения, что миогенные колебания вызваны осцилляциями концентрации ионов Ca^{2+} через мембраны мышечных клеток.

В пользу влияния ЭМИ КВЧ на кальций-регулируемые процессы свидетельствует концепция, базирующаяся на экспериментальных данных [33], которая заключается в том, что внешнее ЭМИ может воздействовать на биологическую систему на уровне трансдукции внутриклеточных сигналов, что напрямую связано с изменением кальций-регулируемых процессов в клетке. Предполагается, что первичным звеном рецепции низкоинтенсивных ЭМИ являются нелинейные осцилляции, свойственные биологическим системам, в частности, осцилляции цитозольного кальция [28] и осцилляции потенциалов действия. Так, нетепловые эффекты обнаружены на Ca^{2+}-активируемых калиевых и хлорных каналах [29]. Известно, что стимуляция открытия Ca^{2+}-активируемых калиевых каналов вызывает расслабление гладкомышечных клеток и, как следствие, вазорелаксацию. Некоторые авторы отмечают гиперполяризацию мембран возбудимых клеток при облучении ЭМИ КВЧ, что, возможно, и могло явиться причиной дилатации прекапиллярных артериол.

В работе H. Schmid-Shonbein с соавт. [21] прекапиллярную вазорелаксацию связывают с «гистамино» похожей субстанцией. Наряду с этим, показано, что под влиянием ЭМИ КВЧ [25, 30] происходит дегрануляция тучных клеток (ТК) кожи с выделением биологически активных веществ (БАВ), например, гистамина, протеазы серотонина, гепарина. Показано, что уровень гистамина в зоне дегрануляции ТК под действием ЭМИ КВЧ увеличивается в 30 раз, что вызывает пролонгированное расширение капилляров. Вероятно, это может стимулировать ответ прекапиллярных сфинктеров на действие низкоинтенсивного фактора. Таким образом, миогенные осцилляции тканевого кровотока могут быть одним из акцепторов биологического действия ЭМИ КВЧ.

В то же время в данном исследовании показано, что изменения в системе микроциркуляции под влиянием КВЧ-воздействия во многом детерминированы изменением функциональной активности микроваскулярного эндотелия, обладающего рядом важных функций, в частности, регуляцией сосудистого тонуса, посредством высвобождения эндотелиальных релаксирующих (простациклин, оксид азота (NO), фактор гиперполяризаци и т.д.) и констрикторных факторов (эндотелин, ангиотнзин II и т.д.), что обеспечивает динамическое равновесие между ними и влияет на сосудистую проницаемость [31]. Механизм действия ЭМИ на сосуды микроциркуляции может быть прямым или непрямым. В первом случае ЭМИ действует непосредственно на эндотелий и, вероятно, это как раз случай

локального КВЧ-воздействия. Предполагается, что эндотелиальные клетки являются главной мишенью для воздействия ЭМИ путем изменения их функциональной активности [4]. В последнее время в литературе широко обсуждается вопрос о посреднической роли NO, как главного паракринного вазодилататора, регулятора сосудистого тонуса, при действии ЭМИ. Ряд авторов [1, 8]; считают, что именно через усиление выработки NO сосудистым эндотелием опосредуется действие ЭМИ на процессы микроциркуляции.

Кроме того известно, что внутриклеточным стимулом для активации NO является увеличение внутриклеточного Ca^{2+}. При этом показано, что мм-излучение может влиять на осцилляции концентрации внутриклеточного свободного Ca^{2+} [32], а следовательно, способствует активации и высвобождению NO из сосудистого эндотелия.

Механизм действия ЭМИ на эндотелий микрососудов может быть и опосредованным, например, клетками крови, которые также могут принимать участие в реализации вазотропного биологического эффекта ЭМИ КВЧ. Большой чувствительностью к действию ЭМИ КВЧ обладают лейкоциты и макрофаги, активация которых способствует продукции факторов неорганической природы, обладающие высокой реактивностью, в частностью NO.

Существуют немногочисленные данные об увеличении Ca^{2+}- независимой изоформы NO-синтазы, активирующейся при действии интерферона, фактора некроза опухоли [Новоселова, 2002], которые интенсивно высвобождаются в результате эффекта прайминга при КВЧ-воздействии [33].

Кроме того, действие ЭМИ КВЧ опосредуют выделяемые в тканях метаболически активные вещества. В частности, гистамин, выделяемій при дегрануляции ТК, оказывает влияние на микроваскулярный эндотелий посредством увеличения сократительной активности эндотелиальных клеток, что играет определенную роль в транскапиллярном обмене. Причем отклик сосудистого эндотелия, возникающего под влиянием БАВ наступает с большим скрытым периодом, чем сокращение миоцитов микрососудов. Вероятно, этим обусловлена первичная реакция именно миоцитов гладкомышечных клеток на КВЧ-воздействие, наблюдавшаяся в первые 10 минут и более поздняя реакция эндотелиальных клеток на 20-30 минутах воздействия. Кроме того, гистамин вызывает пролонгированное расширение капилляров, наблюдавшееся к 30-ой минуте действия мм-волн.

Следовательно, сосудистый эндотелий вполне может быть, с одной стороны, первичной мишенью, а, с другой стороны, принимать непосредственное участие в механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ.

Таким образом, локальный ответ со стороны микроциркуляторного русла на действие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ обусловлен активацией местных механизмов тканевого кровотока в виде усиления осцилляции миогенного и эндотелиального диапазонов, что влечет за собой более глубокую модуляцию тканевого кровотока, увеличение транспортной функции крови, интенсификацию транскапиллярного обмена как следствие, улучшение трофики тканей.

БАВ, выделяемые из ТК, оказывают действие и на многочисленные нервные окончания, что может быть причиной формирования ответа всего организма на

действие ЭМИ КВЧ [30, 34]. Кроме того, многие исследователи делают вывод о том, что интенсивности ЭМИ КВЧ, используемые в терапии, достаточны для активации рецепторов (механо-, термо- и болевых рецепторов) и других нервных окончаний и периферических волокон, расположенных в коже [35]. После первичной рецепции сигнал из периферических нервных окончаний и волокон поступает в ЦНС, что может быть причиной рефлекторного изменения тонуса кровеносных сосудов. В то же время на эндотелии могут быть специфические рецепторы не только к гистамину, но также и к ряду вазоактивных агентов, оказывающих свое влияние на перфузию. Однако нейрогуморальный контур в реализации биологических эффектов КВЧ-воздействия включается, как правило, при курсовом воздействии данного физического фактора. В то же время остается невыясненным вопрос о том, в какой последовательности и в какое время начинают вступать нейрогуморальные регуляторные компоненты при исследовании влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микроциркуляцию крови, что и является целью дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ

1. Под влиянием ЭМИ КВЧ происходят изменения процессов микроциркуляции, что выражается в преобладании тонус-зависимых факторов регуляции микроциркуляторного русла, а также доминировании нутритивного кровотока в зоне локального КВЧ-воздействия в разные временные периоды. В виду того, что указанные изменения наблюдались в зоне непосредственного КВЧ-воздействия и не наблюдались в области контрольной БАТ, это свидетельствует о локальном характере ответа со стороны капиллярного русла на действие данного низкоинтенсивного физического фактора.
2. В первые 10 минут КВЧ-воздействия наблюдалось увеличение амплитуды миогенных колебаний на 36,09% на фоне снижения миогенного тонуса на 26,28% и показателя шунтирования на 32,98%, что свидетельствует о вазодилатации прекапиллярных сфинктеров и увеличении количества функционирующих капилляров и, как следствие, перераспределении крови в нутритивное русло.
3. В период с 10-ой по 20-ую мин воздействия мм-волнами наблюдалось достоверное увеличение амплитуды эндотелиальных колебаний относительно значений этого показателя, зарегистрированного в области контрольной БАТ на 18,85%, и росту миогенных колебаний на фоне снижения миогенного тонуса на 7,27% и показателя шунтирования на 12,88% относительно исходных значений, зарегистрированных в области экспериментальной БАТ правой руки.
4. Наибольшие изменения показателей микроциркуляции в зоне КВЧ-воздействия были зарегистрированы при увеличении экспозиции до 30-ти минут, что проявилось в максимальном увеличении нутритивного кровотока, вследствие усиления миогенных и эндотелиальных осцилляций микроциркуляторного русла кожи на 44,06% и 39,97% соответственно, что обусловило снижение шунтового кровотока на 32,36%, и наряду с возрастанием перфузии на 23,86% привело к росту объемных характеристик микрогемодинамики, в частности

объемного нутритивного кровотока на 70,56%. Указанные изменения свидетельствуют об увеличении притока крови в капиллярное русло, существенной модуляции микроциркуляторных процессов, усилению обменных процессов под влиянием мм-излучения.

5. Интенсификация капиллярного кровотока продолжала сохраняться и после КВЧ-воздействия, что выразилось в увеличении миогенных колебаний на 47,57% на фоне снижения как миогенного тонуса на 32,94%, так и объемного шунтового кровотока на 93,59%.

Список литературы

1. Okano C., Modulatory effects of static magnetic fields on pressure of blood in rabbits / C. Okano, H. Okubo // Bioelectromagneties. – 2001. – №22. – P. 408-418.
2. Ichioka S. High-intensity static magnetic fields modulate skin microcirculation and temperature in vivo / S. Ichioka, M. Minegishi, M. Iwasaka, M.Shibata, T. Nakatsuka, K. Harii, Z. Kamiya, S. Ueno // Bioelectromagneties. – 2000. – №21(3). – P. 183-188.
3. Mayrovitz H. Effects of permanent magnet sonresting skin blood perfusion inhealthy persons assessed by laser Doppler flowmetry and imaging / H. Mayrovitz, E. Groseclose, M. Markov, A. Pilla // Bioelectromagnetics. –2001. – №22. –P. 494-502.
4. Tepper O.M. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2 / O.M. Tepper, M.J. Callaghan, E.I. Chang, R.D.Galiano, K.A. Bhatt, S. Baharestani, J. Gan, B. Simon, R.A. Hopper, J.P. Levine, G.C.Gurtner// FASEB J. – 2004. – №11. – P. 1231-1233
5. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа / А.С. Пресман // – М.: Наука, 1968. – 288 с.
6. Okano C. Effects of neck exposure to 5.5 mT static magnetic field on pharmacologically modulated blood pressure in conscious rabbits / C. Okano, H. Okubo // Bioelectromagneties. – 2005. – №26 – P. 469-480.
7. Чуян Е.Н. Изменение процессов микроциркуляции при воздействии низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона / Е.Н. Чуян, Н.С. Трибрат // «Миллиметровые волны в биологии и медицине», -2008. – №4. С. – 33-45.
8. Julia McKey C. Literature review: the effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature / C. Julia McKey, S. Frank Prato, W.Alex // Bioelectromagnetics. – 2007. – Vol.28. – P. 81-98.
9. Крупаткин А.И.. Лазерная допплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005 – 254 с.
10. Чуян Е.Н., Функциональная асимметрия у человека и животных: влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона / Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Пономарева В.П., Чирский Н.В // – Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2004. – 440 с.
11. Родштат И.В. Физиологическая концепция взаимодействия миллиметровых радиоволн с организмом человека / И.В. Родштат // Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине: междунар. симпоз., 1991 г.: сб. докл – М., 1991. – С. 548-553.
12. Мачерет Е.Л. Опыт использования миллиметровых волн нетепловой интенсивности в комплексном лечении больных с закрытой черепно-мозговой травмой с использованием методики многозональной КВЧ-терапии / Е.Л. Мачерет, Б.Н. Филялка, А.О. Коркушко // Миллиметровые волны в биологии и медицине: 10 Российского симп. с межд. Участием, 1995 г.: сборник докл. – М., 1995. – С. 58-59.
13. Вержбицкая Н.И. Морфофункциональные характеристики и реактивность структурных элементов точек акупунктуры и коррелирующих с ними внутренних органов / Н.И. Вержбицкая. – Калинин: ПИК ВИНИТИ, 1988. – 105 с.
14. Бецкий О.В. Миллиметровые волны и живые системы / О.В. Бецкий, В.В. Кислов, Н.Н. Лебедева. – М.: «САЙНС-ПРЕСС», 2004. – 107с.
15. Полякова А.Г. Оптимизация восстановительного лечения больных путем применения КВЧ-терапии / А.Г. Полякова // Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине. – 2002. – № 1 (25). – С.57-61.

16. Крупатикн А.И. Динамический колебательный контур регуляции капиллярной гемодинамики / А.И. Крупатикн // Физиология человека. – 2007. Т.3.–№5.– С. 93-101.
17. Крупаткин А.И. Клиническая нейроангиофизиология конечностей (периваскулярная иннервация и нервная трофика) / А.И. Крупаткин // – М.: Научный мир, 2003 – с. 328.
18. Kvernmo H.D. Oscillations in the Numan Cutaneous Blood Perfusion Signal Modified by Endothelium-Dependent and Endothelium –Independent Vasodilators / H.D. Kvernmo, A. Stefanovska, K.A. Kirkeboen, K. Kvernebo // Microvascular Research. 1999. Vol. 57. P. 298-309.
19. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system / A. Stefanovska, M. Bracic // Contemporary Physics. 1999,. Vol. 40. №1. P. 31-35.
20. Kvandal P. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostangladines / P. Kvandal, A. Stefanovska, M. Veber, H.D. Kvernmo, K.A. Kirkeboen // Microvascular Research. 2003. Vol.65. P. 160-171.
21. Schmid – Schonbein H. Synergetic Interpretation of Patterned Vasomotor Activity in Microvascular Perfusion: Descrete Effects of Myogenic and Neurogenic Vasoconstriction as well as Arterial and Venous Pressure Fluctuations / H. Schmid – Schonbein, S. Ziege, R. Grebe, V. Blazek, R. Spielmann, F. Linzenich // Int J. Microcir. 1997/ выявлению времени возникновения и характера, выявлению времени возникновения и характера, Vol. 17. P. 346-359.
22. Mayer M.F. Impaired 0.1 – Hz vasomotion assessed by laser Doppler anemometry as an early index of peripheral sympathetic neuropathy in diabetes / M.F. Mayer, C.J. Rose, J.-O. Hulsmann, H. Schatz, M. Pfonl //Microvascular Research. 2003. выявлению времени возникновения и характера,Vol.65. P. 88-95.
23. Маколкин В.И. Метод лазерной допплеровской флоуметрии в кардиологии. Пособие для врачей / В.И. Маколкин, В.В. Бранько, Э.А. Богданова и др. – М.:Россельхозакадемия, 1999. – 48 с.
24. Воронков В.Н. Морфологические изменения в коже при действии КВЧ ЭМИ / В.Н. Воронков, Е.П. Хижняк // Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине: межд. симпоз., 1991 г.: сб. докл. – М., 1991. – С. 635-638.
25. Хижняк Е.П. О роли пространственного распределения поглощения ЭМИ в формировании биоэффектов при КВЧ-облучении / Е.П. Хижняк, О.В. Бецкий, В.Н. Воронков // Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине: Межд. Симпоз., 1991 г.: сб. докл. – М., 1991. – С. 630-635.
26. Бецкий О.В. Кожа и электромагнитные волны / О.В. Бецкий, Ю.Г. Яременко // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1998. – № 1 (11). – С. 3-14
27. Walleczek J. Pulsed magnetic field effects on calcium signaling in lymphocytcs: dependence on cell status and field intensity / J. Walleczek, T.F. Budinger // FEBS Lett. – 1992. – Vol. 314. – P. 351-355.
28. Berridge M.J. Cytoplasmic calcium oscillations: A two pool model / M.J. Berridge // Cell Calcium. - 1991. - Vol.12. - P.63-72.
29. Гапеев А.Б. Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных. Обзор Часть I. Особенности и основные гипотезы о механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ / А.Б. Гапеев, Н.К. Чемерис // Вестник новых медицинских технологий. – 1999. – Т. 6. № 1.– С. 15-22.
30. Попов В.И. Дегрануляция тучных клеток кожи под действием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты / В.И. Попов, В.В. Рогачевский, А.Б. Гапеев // Биофизика. – 2001. – Т. 46, вып. 6. – С. 1096-1102.
31. Фролькис В.В. Механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему та патогенетичне лікування захворювань серцево-судинної системи / Фролькис, В.В. Безрукова, Л.Т. Мала // Кровообіг та гемостаз. – 2003. – №2. – С. 42-43.
32. Walleczek J. Electromagnetic field effects on the cells of the immune system: the role of calcium signaling / J. Walleczek // FASEB J. – 1992. – Vol.6. – 3177-3185 p.
33. Чуян О.М. Нейроімуноендокринні механізми адаптації до дії низько інтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук / Е.Н Чуян.: спец. «Физиология человека» / О.М. Чуян. – Київ, 2004. – 40 с.
34. Струсов В.В. Хирургические аспекты применения КВЧ-терапии / В.В. Струсов, Д.В. Уткин, В.А. Дремучев // Миллиметровые волны в биологии и медицине.– 1995. – № 6. – С. 48-49.
35. Алексеев С.И. Электрофизиологическое исследование влияния миллиметровых волн на нервные

клетки / С.И. Алексеев, М.С. Зискин, Н.В. Кочеткова // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1997. – № 9-10. – С. 34-38.

Чуян О.М., Трибрат Н.С.б, Раваєва М.Ю., Древетняк Н.А. **Зміни процесів мікрокровообігу на період дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 175-193.

Показано, що в процесі однократної дії мм-хвиль відбувається зміна показників мікроциркуляції в галузі безпосередньої локальної НВЧ-дії. Виявлено, що в галузі НВЧ-дії відбувається перерозподіл потоку крові на користь домінування нутрітівного кровотоку, що в ЛДФ-грамі відображалося зниженням міогенного тонусу і показника шунтування. Показано, що першими на дію ЕМВ НВЧ реагують залежні для тонусу компоненти регуляції мікроциркуляторного русла, зокрема, міогенний та ендотеліальний частотні компоненти, а реакція носить локальний характер.

Ключові слова: низькоінтенсивне электромагнітне випромінювання надто високої частоти, метод лазерної доплерівської флоуметрії.

Chuyan E.N., Tribrat N.C.,Ravaeva M.U., Drevetnyak N.A. **Changes of blood microcirculation during the lowintensity millimetric-radiation** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 175-193.

It is rotined that in the process of single influence of milimetric-waves there is a change of indexes mikrocirculation in area of direct local ELF-influence. It is exposed, that in area of EHF-influence there is a redistribution of blood stream in behalf on prevailing of nutritive blood stream, that in a LDF-gramme the decline of miogenic tone and index of by-passing expressed. It is rotined that on influence EMR EHF tone-dependent components of adjusting of microvasculature react the first, in particular, miogenic and endothelial frequency components, and this reaction carries local character.

Keywords: lowintensity electromagnetic radiation extremely high frequency, microcirculation, method of laser Doppler flowmetry.

Поступила в редакцию 20.05.2009 г.

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

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

Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 194-199.

УДК: 615.838.7. 074 : 54

ВПЛИВ ВОДИ НА КОЛОЇДНО-СТРУКТУРНИЙ СТАН МУЛОВИХ СУЛЬФІДНИХ ПЕЛОЇДНИХ СИСТЕМ

Нікіпелова О.М.

Показано залежність колоїдно-хімічних показників мулових сульфідних пелоїдних систем від масової частки вологи. Остання визначає структурний стан пелоїдів, від якого залежить можливість їх використання у лікувальній практиці.

Ключові слова: мулові сульфідні пелоїдні системи, колоїдно-хімічні показники, структурний стан.

ВСТУП

Якість мулових сульфідних пелоїдних систем повинна відповідати вимогам [1], які висуваються до лікувальних грязей (пелоїдів) при їх використанні у лікувальній практиці, в тому числі до їх колоїдно-хімічних показників. При цьому колоїдно-хімічні показники мулових лікувальних грязей є головною визначальною ознакою пелоїдів, по якій вони відрізняються від глин. Серед цих ознак основною є висока масова частка вологи на межі текучої консистенції. Масова частка вологи визначає ряд колоїдних властивостей осаду, у т.ч. його пластичність, в'язкість та ін.. При цьому обводненість пелоїдів є необхідною умовою для розвитку діагенетичних змін [2, 3]. Без наявності достатньої кількості рідкої фази в осаді не можуть здійснюватись бактеріальні процеси і проходити міграція ряду елементів [4 – 6]. Рідка фаза є тим провідним середовищем, за допомогою якого окремі повільні зміни в мікроагрегатах осаду розповсюджуються на великий об'єм. Тому метою роботи була оцінка залежності кондиційного та колоїдного стану мулових сульфідних пелоїдних систем від масової частки вологи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Визначення ряду колоїдно-хімічних показників мулових лікувальних грязей (пелоїдів) (масова частка вологи, об'ємна вага, липкість, теплоємність) проводились за методиками [7, 8].

Проведено дослідження пелоїдів лиманів Бурнас, Куяльницький (Одеська обл.), Олександрівського лиману (Приазовський р-н, Запорізька обл.), оз. Чокрак (АР Крим). Проби пелоїдів відбирались згідно вимог [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Порівнюючи отримані дані щодо масової частки вологи та теплоємності (табл. 1), слід відмітити між ними пряму пропорційну залежність – чим вища масова частка вологи, тим вищий вміст тепла, тим вищий тепловий ефект лікувальної процедури. Наприклад, в пелоїдах Куяльницького лиману (2006 р, т. 1/1) при масовій частці вологи 55,79 % питома теплоємність складає 2,71 КДж/кг·К, а у т. 2/1 меншому значенню масової частки вологи (49,62 %) відповідає менше значення питомої теплоємності – 2,50 КДж/кг·К, що свідчить про вплив дисперсності первинних частинок на цю залежність: чим більша дисперсність (менший розмір частинок), тим більша теплоємність.

Таблиця 1.

Деякі колоїдно-хімічні показники мулових сульфідних пелоїдів)

Рік дослідження, точка відбору	Масова частка вологи, %	Об'ємна вага	Липкість, Па	Теплоємність, КДж/кг·К
Лиман Бурнас				
1992, т. 67	33,35	1,54	674,40	0,99
2005, т.1	60,93	1,37	694,30	2,88
т.2	45,34	1,57	624,80	2,36
2006, т.4	38,34	1,66	902,55	2,12
Куяльницький лиман				
1987, т. 9	54,40	1,43	776,19	2,75
т.12	57,14	1,46	937,10	2,66
1990	46,75 57,14	1,39 1,64	641,50 271,80	2,41 2,75
1995	36,34	1,53	1110,80	2,10
2004, т.1	41,75	1,46	1180,25	2,39
т.2	46,29	1,57	1180,25	2,24
2006, т. 1/1	55,79	1,39	833,02	2,71
т. 2/1	49,62	1,51	971,97	2,50
2007, т. 1/1	57,91	1,38	833,12	2,78
т. 2/1	57,69	1,37	763,69	2,77
Оз. Чокрак				
1972	52,93	1,51	1457,92	2,97
1990, т.1	52,39	1,46	1091,30	2,59
т.2	57,15	1,38	613,10	2,75
2004	44,69	1,40	1735,70	2,68
Олександрівський лиман				
1991, т.4 т.5	50,60 42,63	1,34 1,37	979,20 1388,54	2,18 2,05
2006, т. 3 т.7	40,11 36,23	1,67 1,65	1319,11 902,55	2,18 2,05

Аналогічна залежність відмічається у всіх досліджених пелоїдах (рис. 1).

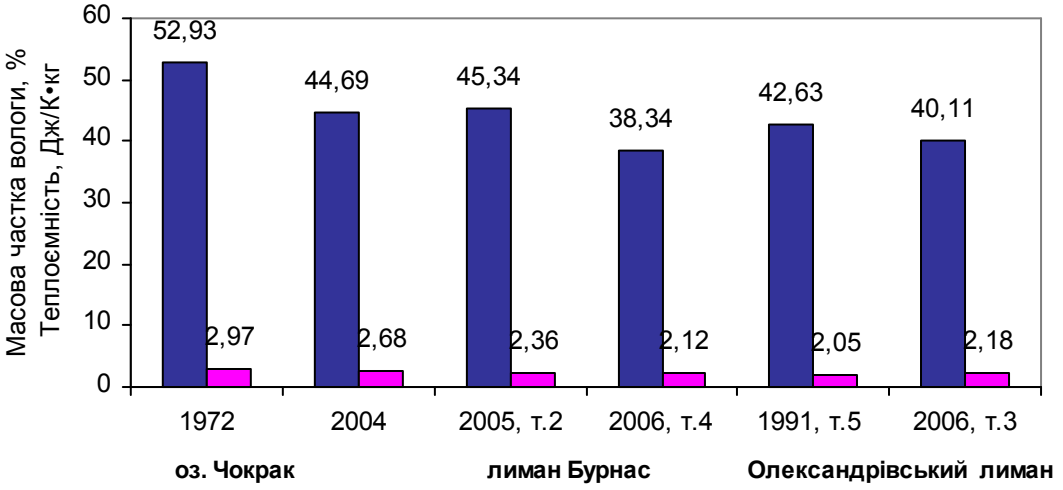


Рис. 1. Зв'язок теплоємності і масової частки вологи різних родовищ пелоїдів.

Кількість масової частки вологи в більшій мірі залежить від структури, дисперсності та складу твердої фази. Інтервал (іноді доволі широкий) масової частки вологи мулових відкладень пов'язаний як з дисперсністю, так і з ступенем гідратації та вираженості структурних зв’язків між частками. Масова частка вологи осадів визначається також їх внутрішньою поверхнею та знаходиться під впливом різних сил, перш за все поверхневої енергії твердих частинок пелоїдів, а також сил молекулярного тяжіння, які діють між молекулами води. Ці сили визначають як характер утримання та переміщення води в пелоїдах, так і її кількість. Величина липкості обводненого осадового матеріалу також залежить від сил молекулярного тяжіння, які діють між молекулами води і поверхнею частинок осаду. Таким чином, липкість пелоїдів в значній мірі визначається їх структурною міцністю, яка залежить від концентрації розчину пелоїдів та його якості.

Об'ємна вага осаду залежить від мінерального складу, пористості та масової частки вологи. Осади однакового складу та пористості можуть мати різну об’ємну вагу через різницю в їх масовій частці вологи (рис. 2).

І, навпаки, осади з однаковою масовою часткою вологи можуть різнитися за об’ємною вагою внаслідок різниці їх мінерального складу та пористості (рис. 3). Донні відкладення різних родовищ пелоїдів, маючи однакову частку вологи (≈ 43,00 %), все ж таки відрізняються один від одного за значеннями об’ємної ваги (1,38 — 1,51), що вказує на різну щільність їх складових.

Структура осадів та ступінь їх діагенетичного ущільнення, яка визначається глибиною залягання шару, також впливають на масову частку вологи та об’ємну вагу.

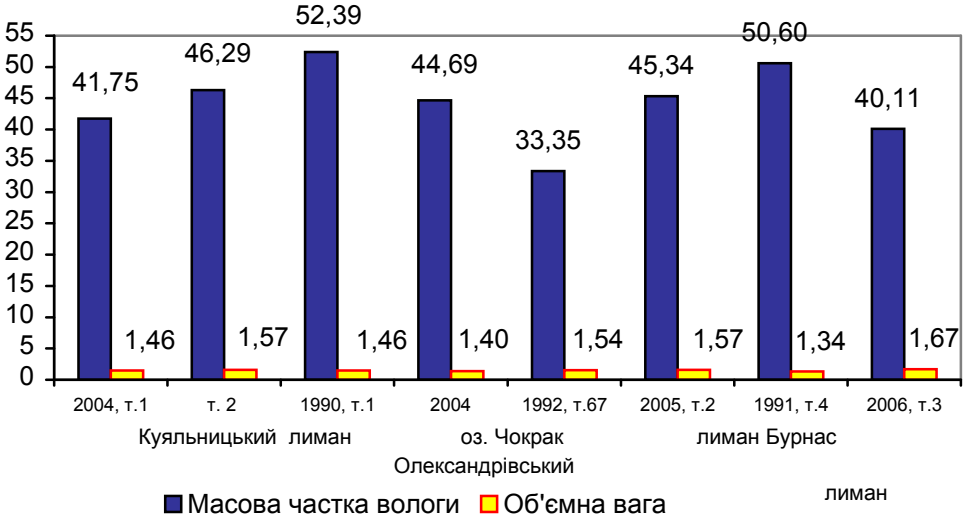


Рис. 2. Об’ємна вага осадів та масова частка вологи ряду родовищ пелоїдів.

На прикладі осадів оз. Соленого (Херсонська обл.) (табл. 2) видно, що з глибиною від поверхні до 0,90 м відмічається зменшення масової частки вологи від 70,90 % до 46,30 %, водночас зростає об’ємна вага з 1,16 до 1,27 за рахунок більшого ущільнення глибинних шарів. Відхилення від цієї залежності на глибинах 0,4 – 0,6 м пов’язані з присутністю підвищеної кількості більш щільних частинок кварцу.

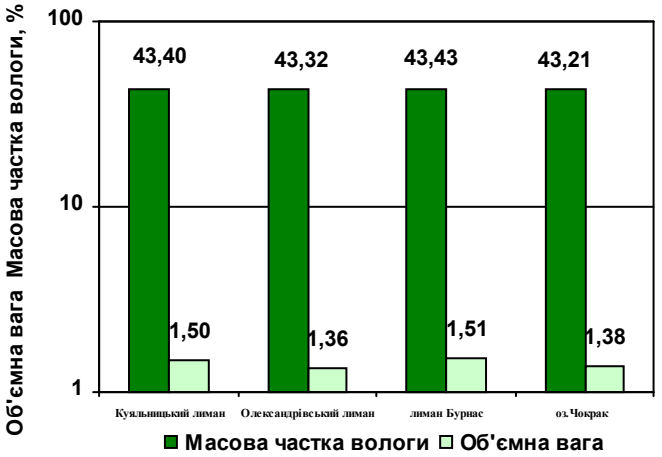


Рис. 3. Об’ємна вага осадів різних родовищ пелоїдів при постійній масовій частці вологи.

Таблиця 2.

Залежність масової частки вологи та об'ємної ваги від глибини залягання осадів оз. Соленого (Херсонська обл.).

Глибина, м	Масова частка вологи, %	Об'ємна вага
0,0—0,2	70,90	1,16
0,2—0,4	83,80	1,07
0,4—0,6	47,80	1,40
0,7—0,8	54,70	1,17
0,8—0,9	46,30	1,27

ВИСНОВКИ

1. Визначено вплив вологості на основні колоїдно-хімічні показники ряду мулових сульфідних пелоїдних систем України.
2. Показано залежність питомої теплоємності, липкості, об'ємної ваги від масової частки вологи, що підтверджує її важливу роль серед колоїдно-хімічних показників мулових сульфідних пелоїдних систем. За допомогою цього показника визначається придатність пелоїдів до використання у лікувальній практиці.
3. Дослідження, проведені на пелоїдах лиманів і озера Чокрак, вказують на доцільність аналогічних досліджень морських пелоїдів, особливо глибинного походження, з мінімальним впливом забруднення навколишнього середовища.

Список літератури

1. Лобода М. В. Лечебные грязи (пелоиды) — характеристика основных типов пелоидов и их современная классификация / М. В. Лобода, К. Д. Бабов, Е. М. Никипелова // Лечебные грязи (пелоиды Украины. Ч.1. Под общ. ред. М.В. Лободы, К.Д. Бабова, Т.А. Золотарёвой, Е.М. Никипеловой.- К.: Куприянова Е. А., 2006. - С. 11-34.
2. Колесникова А. А. Озеро Соленое — новое грязевое месторождение республики / А. А. Колесникова, Л. А. Плисова, Е. М. Никипелова // Курортология и физиотерапия. - 1985. - вып. 18. - С. 7-8.
3. Експериментальне обгрунтування критеріїв кондиційності пелоїдів / К. Д. Бабов, О. М. Нікіпелова, С.І. Ніколенко [та ін.] // Гигиена населенных мест. - 2000. - Вып. 37. - С. 166-169.
4. Никипелова Е. М. Роль металлов в экологическом состоянии месторождений пелоидов / Е. М. Никипелова // Лечебные грязи (пелоиды) Украины. Ч.1. Под общ. ред. М.В. Лободы, К.Д. Бабова, Т.А. Золотарёвой, Е.М. Никипеловой. - К.: Куприянова Е.А., 2006. - С. 69-89.
5. Кузнецов С. И. Микробиология пелоидов / С. И. Кузнецов // Руководство. Основы курортологии. - т. 1. - М.: Медгиз, 1956. - С. 475-491.
6. Бальнеологическая оценка рапы и грязи Большого Яшалтинского озера республики Калмыкия / Н. Н. Абушинова, Г. Е. Самонина, С. Е. Бадмаева [и др.] // Вопр. курорт, физиотерап.и ЛФК. - 2002. - № 3. - С. 38-40.
7. Бахман В. И. Методика анализа лечебных грязей (пелоидов) / В. И. Бахман, К. А. Овсянникова, А. Д. Вадковская. - М.: 1965. - 142 с.
8. Нікіпелова О. М. Посібник з методів контролю пелоїдів та препаратів на їх основі / О. М. Нікіпелова, Л. Б. Солодова. - Мін-во охорони здоров'я України; Укр. н.-досл. ін-т мед. реабіл. та

курорт.; Укр. держ. Центр стандарт. і контролю якості прир. і преформов. засобів. Ч.1. Фізіко-хімічні дослідження. - Одеса, 2008. - 100 с

Никипелова Е.М. **Влияние воды коллоидно-структурное состояние иловых сульфидных пелоидных систем** // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского "Серия Биология, Химия». – 2009. Т. 22 (61). – № 2. – С. 194-199.

Показана зависимость коллоидно-химических показателей иловых сульфидных пелоидных систем от массовой доли влаги, которая определяет их структурное состояние. От этого состояния зависит возможность использования пелоидов в лечебной практике.

Ключевые слова: иловые сульфидные пелоидные системы, основные коллоидно-химические показатели, структурное.

Nikipelova O.M. **Influence water in structure-colloidal condition silt sulphide mud system** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 194-199.

A dependence of definite colloidal-chemical index silt sulphide mud system from mass part moisture, that determine their structure-colloidal condition was showed. By this condition a possibility to use mud in medical practice considers.

Keywords: silt sulphide mud system, principal colloidal- chemical index, structure-colloidal condition.

Поступила в редакцию 20.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 200-206.

УДК 615.218.3

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ АЛЛЕРГЕНОВ

Романовская И.И.

Исследована иммобилизация аллергенов пыльцы ржи и белка куриного яйца включением в поли-N-винилкапролактам и адсорбцией на аэросиле А-380. Получены препараты аллергенов с высокой степенью связывания белка, стабильные при хранении, пролонгированного действия в средах, моделирующих pH желудка и кишечника.

Ключевые слова: аллергены, иммобилизация, поли-N-винилкапролактам, аэросил.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с постоянным увеличением частоты аллергических заболеваний, внимание исследователей направлено на создание их стабильных форм пролонгированного действия и новых путей введения. Известны различные методы иммобилизации аллергенов для неинвазивного пути введения: включение в состав драже [1], полимерные пленки [2]; сорбция на гидроксиде алюминия и фосфате кальция [3], l-тирозине [4], кусочках сахара-рафинада [5], активированном угле, ковалентная сшивка при помощи глутарового альдегида и хлористого цианура с полимерными носителями (ПВС, ПЭГ, ПВП) [6]. Однако в ряде случаев, существенной стабилизации достичь не удалось, а используемые методы - сложны и неэкономичны.

Перспективными носителями для иммобилизации являются поли-N-винилкапролактам и аэросил А-380. ПВК- высокогидрофильный термоосаждаемый полимер, с широким диапазоном растворимости, ярко выраженной склонностью к комплексообразованию, отсутствием токсичности, что позволяет использовать его для иммобилизации БАВ в самых различных направлениях [7]. С рядом низкомолекулярных (фенол, резорцин, *о*- и *п*-крезолы, пирокатехин, хлорфенолы, 2-нитро-2-бром-пропандиол-1,3, триклозан) и высокомолекулярных (овальбумин, Na-КМЦ) стабилизаторов образует частично растворимые гранулы [8, 9]. Аэросил А-380 – непористый высокодисперсный кремнезем (удельная поверхность 380 $м^2/г$, размер частиц 7 нм), основными адсорбционными центрами которого являются силанольные группы SiOH; обладает высокими адсорбционными свойствами по отношению к белкам, ферментам, экзо- и эндотоксинам, микроорганизмам; нетоксичен; отсутствие пор обеспечивает быстроту протекания адсорбции [10].

Аллергены белка куриного яйца (АБКЯ) и пыльцы ржи (АПР) - представители многочисленных групп пыльцевых и пищевых аллергенов, используемых как для диагностики, так и для проведения СИТ [3, 6] в комплексном лечении

аллергических заболеваний – характеризуются широкой распространенностью и высокой аллергоопасностью. Для пыльцевых аллергенов – это поллиноз, часто сопровождающийся развитием бронхиальной астмы, для пищевых – анафилактические реакции [3].

Основные аллергенные компоненты пыльцы злаков (М.м. 38-40000) и белка куриного яйца: (лизоцим, овомуцин, овальбумин, овомукоид) представлены гликопротеидами.

Целью настоящего исследования явилось изучение иммобилизации пищевых и пыльцевых аллергенов методом включения в поли-N-винилкапролактам и адсорбции на аэросиле

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали коммерческие препараты АПР и АБКЯ (ОАО «Иммунолог») в форме водно-солевых растворов, стандартизованные по белковому азоту (PNU/см^3), стабилизированные 0,4 % фенолом. Содержание белка в аллергенах определяли по методу Брадфорда [11], фенола и резорцина - 4-аминоантипириновым методом [12]. Включение аллергенов в ПВК проводили согласно [13]. Адсорбцию аллергенов аэросилом проводили в статическом режиме из растворов: 4 см^3 водно-солевого раствора аллергена (pH 7,2) с концентрацией белка 50-2000 мкг перемешивали с навеской аэросила при $t_{комн.}$ на встряхивателе до установления равновесия. Несвязанный белок и фенол удаляли многократной промывкой образцов. Связывание белка и фенола определяли по разности их содержания в исходном препарате и надосадочной жидкости после включения в ПВК. Измерение вязкости водных растворов полимеров ПВК со стабилизаторами и лизоцимом проводили с помощью вискозиметра Оствальда с диаметром капилляра 0,73 мм [14]. Для изучения влияния стабилизаторов на включение белка АПР использовали диализированный против воды в течение 3-суток препарат аллергена. Десорбцию белка и фенола из иммобилизованного в ПВК АПР проводили при pH=3,0 и pH=8,2 в соответствующих буферных растворах на протяжении 280 мин. Для построения изотерм адсорбции одинаковые навески аэросила А-380 (20 мг) помещали в растворы аллергенов. Через 1 ч инкубации при постоянном перемешивании при 20˚С определяли остаточные концентрации сорбируемого белка и рассчитывали удельную емкость сорбента. Количество белка, адсорбированного 1 г аэросила (Г), рассчитывали по формуле:

$$Г = \frac{(C_0 - C_{равн.})a}{1000в}$$, где:

C_0 - исходная концентрация белка, мг/дм^3;

$C_{равн.}$ - остаточная (равновесная) концентрация белка, мг/дм^3;

а - объем раствора белка, добавленный к навеске аэросила, см^3;

в – масса аэросила, г.

Десорбцию белка из иммобилизованных на аэросиле препаратов АПР и АБКЯ (4,78 мг/ г носителя и 41,4 мг/г носителя, соответственно) изучали при pH 1,9, 7,2, и 8,2; t 37 °С. Отбор проб проводили на протяжении 120 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием ПВК в качестве матрицы показано, что при температуре 40ºС степень включения белка и фенола была максимальной, составляя 92,6 и 74,3 %; получены иммобилизованные препараты в виде устойчивых при высыхании гранул правильной сферической формы, диаметром 2 мм. Установлено, что для всех изученных соотношений белок: ПВК степень связывания белка и фенола АПР составила 82-96,0 % и 55,0-83,4 %; АБКЯ – 42,5-50,7 % и 52,2 – 74,6 %, соответственно, в зависимости от концентрации белка и фенола (рис.1).

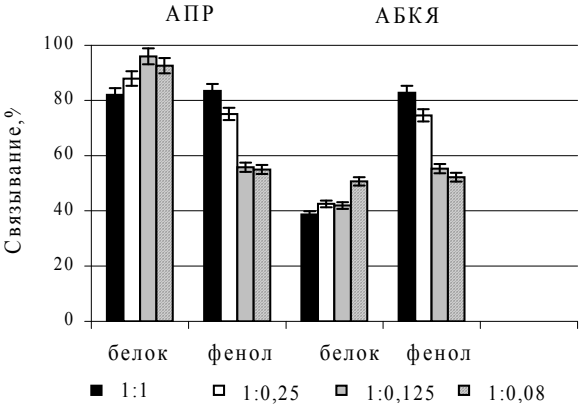


Рис. 1. Зависимость связывания белка и фенола АПР и АБКЯ от соотношения белок аллергена: ПВК

При увеличении соотношения белок : носитель по мере возрастания степени связывания белка апр и абкя матрицей отмечена тенденция к снижению связывания фенола. Так, если при соотношении белок апр: пвк 1:1 включалось 83,4 % фенола, то при 1: 0,08 – всего 55 % , что вероятно, можно объяснить конкуренцией белка и фенола за связывание с полимером. Аналогично, при иммобилизации абкя в пвк при увеличении соотношения белок: носитель связывание фенола уменьшалось. О взаимодействии матрица-аллерген свидетельствует уменьшение значений приведенной вязкости растворов пвк с лизоцимом (компонентом абкя), пвк с фенолом, пвк с лизоцимом и фенолом (рис. 2); взаимодействие носит достаточно сложный характер и происходит как путем комплексообразования фермента и стабилизатора с носителем, так и механического включения в структуру полимера.

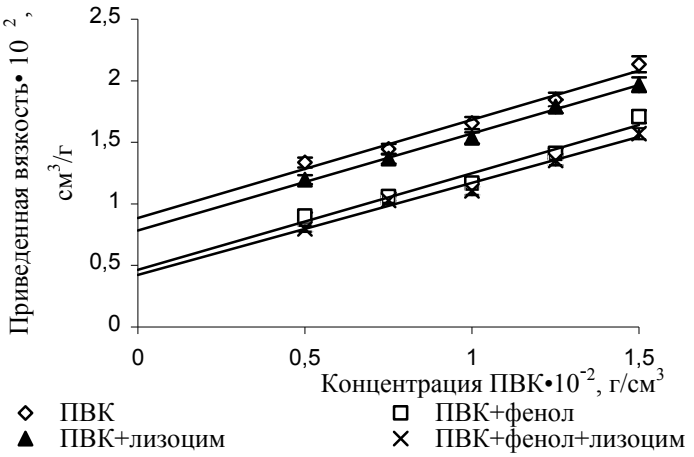


Рис.2. Влияние лизоцима и фенола на приведенную вязкость растворов ПВК

В экспериментах с обесфеноленным АПР использовали 0,38 % резорцин и 0,5 % аспирин как стабилизаторы гранулообразования при связывании белка аллергена с ПВК; вследствие низкой концентрации белка в диализированном АПР степень включения белка была невысокой (12,3 и 24,0 %, соответственно).

При исследовании динамики выхода белка и фенола из иммобилизованного АПР (рис.3 а, б) показано, что при pH 3,0 количественный выход белка и фенола достигается за 160 и 150 мин; при pH 8,2, соответственно, за 275 и 130 мин. Т.е. в кислой среде отмечен более быстрый выход белка и более медленный фенола, чем в щелочной. Следует также подчеркнуть, что фенол в используемых средах десорбируется быстрее белка, что, возможно, связано с образованием более прочных комплексов белок-ПВК; аналогичная закономерность отмечена и в отношении АБКЯ.

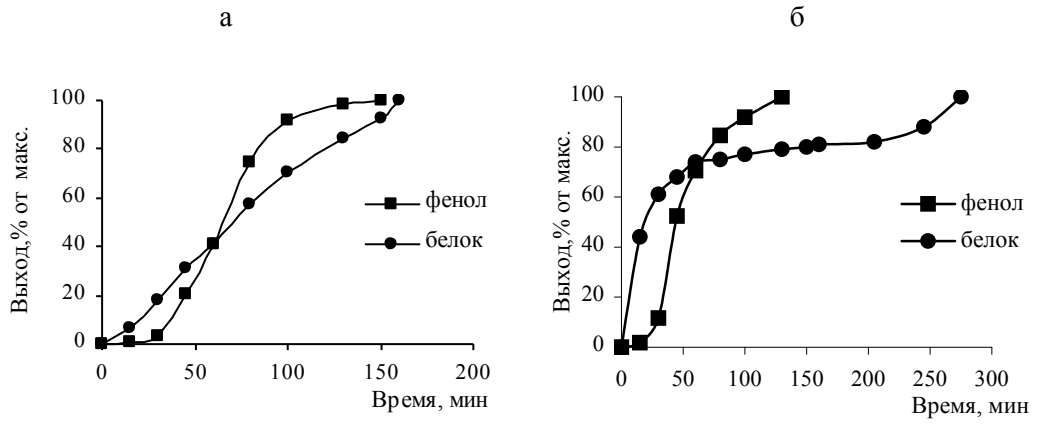


Рис. 3. Динамика выхода белка и фенола из включенного АПР в ПВК при pH 3 (а) и pH 8,2 (б)

Исследование адсорбции аллергенов аэросилом показало, что степень связывания белка АПР и АБКЯ возрастала по мере увеличения концентрации белка. Оптимальный диапазон соотношений белок: носитель составил для АПР и АБКЯ – 1:100 –1:70 и 1:20 – 1:10, соответственно; при этом с аэросилом связалось 50,0 % белка АПР, белка АБКЯ, соответственно, 83,7% (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние соотношения белок: носитель на связывание АПР и АБКЯ аэросилом

АПР		АБКЯ	
Массовые соотношения белок:носитель	Связывание белка,%	Массовые соотношения белок:носитель	Связывание белка,%
1 : 420	26,0	1 : 400	4,3
1 : 210	30,9	1 : 200	45,2
1 :100	50,0	1 : 50	74,5
1 : 70	49,7	1 : 20	79,4
–	–	1 : 10	83,7

Связывание белка АПР и АБКЯ во времени увеличивается, достигая через 60 мин 4,78 и 41,28 мг/г, соответственно (табл. 2); т.е. равновесие в обоих случаях устанавливалось за 60 мин, что согласуется с данными о времени достижения равновесия при адсорбции бычьего сывороточного и яичного белков на высокодисперсном кремнеземе [1, 9].

Таблица 2.

Адсорбция АПР* и АБКЯ аэросилом**

Время, мин	Белок АПР	Белок АБКЯ
	Связывание, мг/г носителя	Связывание, мг/г носителя
5	–	13,05
15	2,04	32,39
30	3,77	37,06
45	4,40	–
60	4,78	41,28
90	4,82	41,40
90	4,82	41,40

Массовое соотношение белок : аэросил составило: * 1:100 , ** 1:20

В обоих случаях не отмечено связывания фенола носителем, что согласуется с имеющимися в литературе сведениями, объясняющими отсутствие хемосорбции фенола на поверхности аэросила его меньшей основностью по сравнению с гидроксильной группой поверхности кремнезема [8]. Построенные изотермы адсорбции белка АПР и АБКЯ аэросилом (рис.3 а,б) отнесены к L-типу [10].

Изучение десорбции аллергенов показало, что при pH 7,2 белок остается в связанном состоянии; при pH 1,9 максимальный выход белка АБКЯ: 59,7% от исходного – адсорбированного аэросилом препарата – достигается за 60 мин; выход белка АПР составил 5,9 % от исходного через 120 мин. При pH 8,2 максимальный выход белка из иммобилизованного препарата АПР (55,0 % от исходного) отмечен через 120 мин; белок АБКЯ десорбируется в этих условиях в незначительных количествах: через 120 мин его выход составил всего 2,2 %.

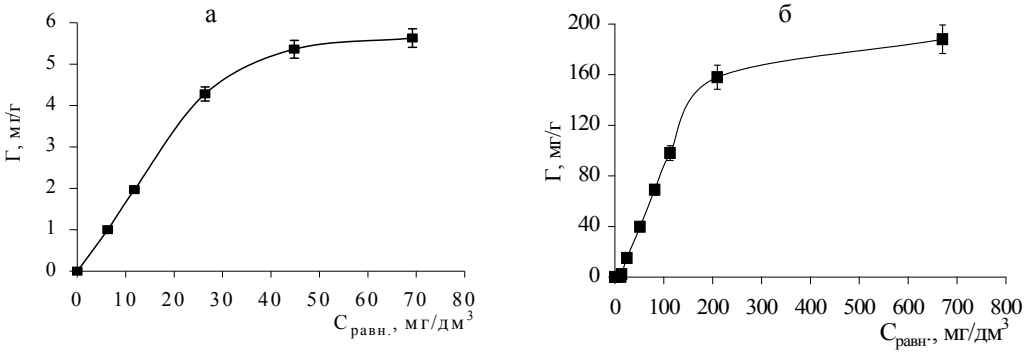


Рис.3 Изотермы адсорбции белка АПР (а) и АБКЯ (б) аэросилом

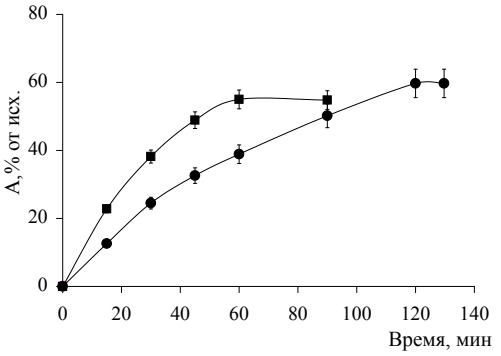


Рис. 4 Десорбция белка из иммобилизованных на аэросиле АБКЯ при pH 1,9 (■) – и АПР при pH 8,2 (●)

После 8-ми месяцев хранения (t 4°C) иммобилизованных в ПВК препаратах АПР и АБКЯ сохранилось 83,0 % – 72,9 % белка и 69,2 % – 72,8 % фенола, соответственно; в иммобилизованных на аэросиле препаратах аллергенов определен количественный уровень сохранения белка/

ВЫВОД

В результате использования ПВК и аэросила в качестве матриц, получены иммобилизованные препараты аллергенов с высокой степенью связывания белка, устойчивые при хранении; показано применение как стабилизаторов ПВК менее

токсичных, чем фенол, аспирина и резорцина, селективное связывание белка аэросилом, пролонгированность действия в средах, моделирующих pH желудка и кишечника.

Список литературы

1. Современные взгляды на проблему лечения аллергического ринита / Б. М. Пухлик, С. М. Пухлик., И. В. Корицкая [и др.] // Укр.пульмонол.журн. – 2004. - №2. - С. 18-21.
2. Романовська І. І. Іммобілізація алергенів для створення потенційних діагностичних та лікарських засобів інтраназального способу введення / І. І. Романовська, С. М. Пухлік, Б. М. Пухлік // Одеський мед. журн. – 2006. - Т. 94. - № 2. - С. 25-29.
3. Райкис Б. Н. Настоящее и будущее лечебных аллергенов / Б. Н. Райкис, А. Х. Казиев. - М.: Триада-Х, 2001. - 246 с.
4. Hypersensitization with a tyrosine adsorbed extract of Dermatophagoides pteronyssimus in adults with perennial rhinitis / A. D. Blainey, M. J. Philips, S. Olivier [et al.] // Allergy. - 1984. - V. 39. - № 7. - P. 521-528.
5. Пероральный метод специфической иммунотерапии поллиноза / Е. В. Передкова, Н. В. Медуницин, Ю. А. Порошина [и др.] // Иммунология. - 1986. - № 6. - С.49-51.
6. Фрадкин В. А. Диагностические и лечебные аллергены / В. А. Фрадкин. - М.: Медицина, 1990. – 260 с.
7. Кирш Ю. Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды / Ю. Э. Кирш. – М.: Наука, 1998. – 252 с.
8. Соединения включения фенолов в поли-N-винилкапролактам / Ю. Е. Шапиро, Т. И. Давиденко, И. И. Кравченко [и др.] // Доповіді НАН України. - 1996. - № 6. - С. 125-129.
9. Стабилизация поли-N-винилкапролактама / Т. И. Давиденко, И. И. Пашкин, Ю.Е. Шапиро [и др.] // Доп. НАН України. – 2002. – №12. – С.108-113.
10. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / [под ред. А. А. Чуйко]. - К.: Наукова думка, 2003. - 415 с.
11. Якубке Х. Д. Аминокислоты, пептиды, белки / Х. Д. Якубке. – М.: Наука, 1985. – С. 335-356.
12. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений / И. М. Коренман. - М.: Химия, 1975. - 360 с.
13. Иммобилизация пероксидазы в поли-N-винилкапролактам / И. И. Романовская, О. В. Осейчук, О. В. Севастьянов [и др.] // Вісник ОНУ. – 2005. – Т. 10. - № 8. – С. 49-54.
14. Бартеньев Г. М. Физика полимеров / Г. М. Бартеньев, С. Я. Френкель. - Л.: Химия, 1990. - 332 с.

Романовська І.І. **Перспективні матриці для іммобілізації алергенів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. – С. 200-206.

Досліджена іммобілізація алергенів пилку жита і білка курячого яйця включенням у полі-N-вінілкапролактам і адсорбцією на аеросилі А-380. Отримані препарати алергенів з високим ступенем зв’язування білка, стабільні при зберіганні, пролонгованої дії у середовищах, що моделюють pH шлунку і кишечнику.

Ключові слова: алергени, іммобілізація, полі-N-вінілкапролактам, аеросил.

Romanovskaya I.I. **The perspective matrices for allergens immobilization** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 200-206.

The immobilization of rye pollen- and hen egg’s white allergen was studied by entrapment in poly-N-vinyl caprolactam and by adsorption on aerosil A-380. The preparations of allergens with high level of protein binding, stable at storage, prolonged action in model stomach- and intestine- pH-modeling media, were obtained.

Keywords: allergens, immobilization, poly-N-vinyl caprolactam, aerosil.

Поступила в редакцию 25.05.2009 г

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 207-211.

УДК 539.196+543.422

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ АНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РАЗБАВЛЕННЫХ РАСТВОРАХ В CCl_4

Шейх – Заде М.И.

Получены инфракрасные спектры растворов антраниловой кислоты в CCl_4 в области валентных колебаний гидроксильной, амино− и карбонильной групп в интервале температур 22−72 ^{o}C. Проведено отождествление полос νOH, νNH, νC=O. Из анализа значений частот полос, концентрационной и температурной зависимостей интенсивностей полос сделан вывод о конформациях мономеров и димеров этой кислоты при выбранных условиях эксперимента.

***Ключевые слова*:** инфракрасные спектры, антраниловая кислота, конформация, мономеры, димеры.

ВВЕДЕНИЕ

Измерение термодинамических характеристик образования межмолекулярной водородной связи (МВС) R−A−H…B−Y позволяет судить о протонодонорной и протоноакцепторной способностях молекул-партнеров R−A−H и B−Y соответственно. Эта задача усложняется, если в качестве донора протона выступают карбоновые кислоты, так как в этом случае имеет место конкурирующее равновесие самоассоциации кислот. Картина еще более усложняется, если в молекулах донора протона имеются две и более функциональных групп, которые могут участвовать как в МВС, так и во внутримолекулярной водородной связи (ВВС). Известно также [1], что молекулы одного и того же вещества существуют в разных конформациях в зависимости от агрегатного состояния (газ, жидкость, твердое тело), от вида растворителя, концентрации, температуры. Все это предопределяет выбор методов и методик измерения термодинамических характеристик образования водородной связи. Поэтому важно предварительно установить в каких молекулярных формах (конформациях) существуют молекулы исходных веществ в тех конкретных экспериментальных условиях, при которых будут проводиться измерения термодинамических характеристик.

В продолжение работ [2] (и ссылки в [2]), выполненных нами по изучению протонодонорной способности алифатических и ароматических карбоновых кислот, в настоящей работе в качестве объекта исследования выбрана антраниловая кислота (АК). Так как в молекуле АК имеется амино-группа в орто-положении к карбоксильной группе, то в молекулах АК, в принципе, могут иметь место ВВС типа N−H…O=C, N−H…O, O−H…N. Молекулы АК могут образовывать также самоассоциаты линейного (например, O−H…O=C, N−H…O−C) и циклического типов.

Целью данной работы являлось установление молекулярных форм АК,

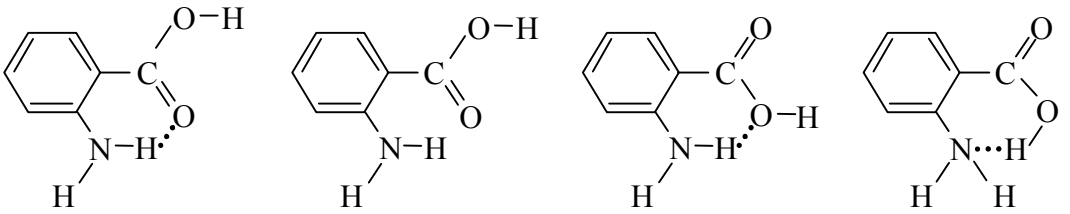
существующих в следующих условиях: растворитель − CCl_4, область концентраций 0.005−0.1 моль/л, интервал температур 22−72 ^oC.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной задачи был использован метод ИК-спектроскопии, так как в инфракрасной области спектра молекулы АК имеют полосы поглощения, которые можно использовать для целей качественного и количественного анализа. ИК спектры растворов АК в CCl_4 регистрировались на спектрофотометре UR – 20. Спектральная ширина щели, скорость сканирования спектра, постоянная времени приемно-регистрирующей системы выбирались такими, чтобы свести к минимуму искажающее влияние прибора на спектры. Исследовались растворы АК в CCl_4 при различных концентрациях в интервале 0.005−0.1 моль/л в термостатируемых кюветах с окнами из CaF_2 при температурах 22, 38, 55, 72 ^oC. Температура измерялась медь–константановой термопарой с точностью 0.5 ^oC. Осушка CCl_4 проводилась P_2O_5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Априори можно предположить, что мономерные молекулы АК могут существовать, по крайней мере, в четырех конформациях:



I **II** **III** **IV**

Реализация той или иной структуры зависит от относительной способности функциональных групп к участию в ВВС, стерических и электростатических эффектов.

На рис.1 показаны ИК спектры разбавленных растворов АК в CCl_4 в области νOH, νNH, νC=O. Из рисунка видно, что в области νOH наблюдается полоса с частотой 3541см $^{-1}$ (которая частично накладывается на полосу ν_a 3508 см $^{-1}$ колебаний NH_2−группы) и широкая, интенсивная полоса с центром ~2950 см$^{-1}$. Положение этих полос в спектре сходно с положением полос νOH, например, для БК и 4−NH_2−БК, табл.1.

По аналогии с БК, 4−NH_2−БК полосы с частотами 3541 и ~2950 см$^{-1}$ можно отнести к $\nu_м$OH мономеров и $\nu_д$OH…O=C димеров АК. Такое отнесение полос не вызывает сомнений и подтверждается концентрационной и температурной зависимостями интенсивностей этих полюс. Так как частота $\nu_м$OH АК имеет практически такое же значение как для БК и 4−NH_2−БК, в которых заведомо нет ВВС, то можно сделать вывод, что в выбранных условиях эксперимента отсутствует структура АК **IV**, а также структура **III**.

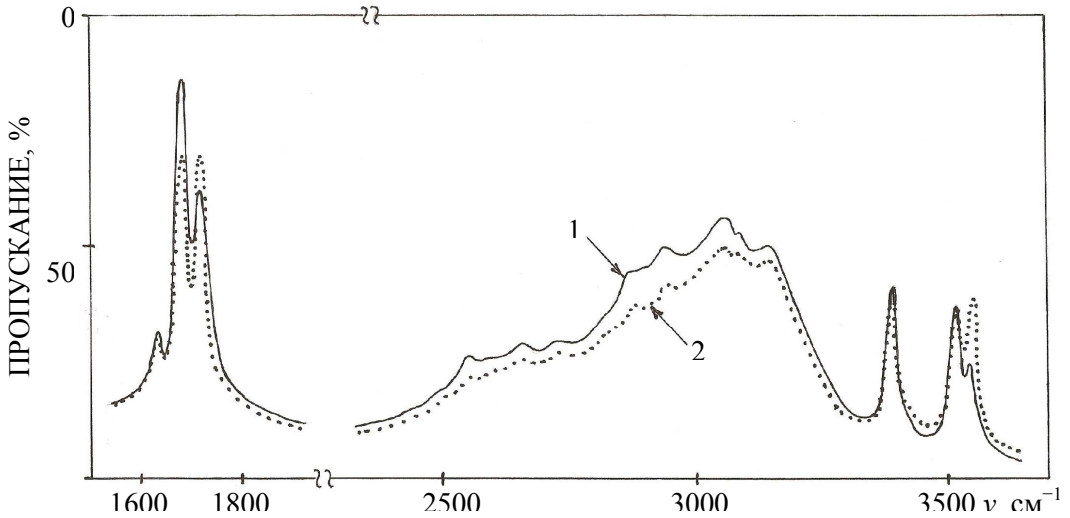


Рис.1 Спектры раствора АК в CCl_4 при температуре 22 °С (1) и 72 °С (2).
$C^a_o = 5\cdot10^{-3}$ моль/л, d = 4.1мм

Таблица 1

Частоты полос νOH, νC=O, νNH_2 в см$^{-1}$ исследованных веществ в растворе в CCl_4 при 22 °С

Вещество	$\nu_м$OH	$\nu_д$OH	$\nu_м$C=O	$\nu_s NH_2$	$\nu_a NH_2$	$\nu_a - \nu_s$	Литература
БК	3542	~ 2950	1743	–	–	–	
АК	3541	~ 2950	1712	3382	3508	126	
АК	–	–	–	3381	3512	131	[3]
МЭАК	–	–	1701	3378	3507	129	
4–NH_2–БК	3546	~ 2950	1733	3414	3506	92	
АНИЛИН	–	–	–	3395	3479	84	
АНИЛИН	–	–	–	3393	3478	85	[4]
2–NO_2–АНИЛИН	–	–	–	3397	3517	120	
2–NO_2–АНИЛИН	–	–	–	3402	3516	114	[4]
3–NO_2–АНИЛИН	–	–	–	3406	3495	89	[4]
4–NO_2–АНИЛИН	–	–	–	3419	3508	89	[4]

Реализация структуры **III** привела бы к уменьшению электронной плотности на атоме кислорода OH–группы за счет участия этого атома в ВВС N–H…O–H и, как следствие, частота $\nu_м$OH АК должна была бы быть больше, чем $\nu_м$OH БК и 4–NH_2–БК, что не наблюдается в эксперименте, табл.1. В области валентных колебаний

аминогруппы наблюдаются две полосы с частотами 3382 и 3508 см$^{-1}$ (разбавленный раствор в CCl_4, температура 22°C), которые очевидно можно отнести соответственно к симметричным ν_s и антисимметричным ν_a валентным колебаниям аминогруппы. В аналогичных экспериментальных условиях были получены спектры метилового эфира АК (МЭАК) и 4−NH_2−БК и определены значения ν_s и ν_a, табл.1. Близкие значения ν_s и ν_a для АК были получены в работе [3]. Из табл.1 видно, что значения ν_s и ν_a для АК и МЭАК практически совпадают и не сильно отличаются от значений ν_s и ν_a для 4−NH_2−БК, в которой нет ВВС. Поэтому, исходя из значений ν_s и ν_a для АК (и МЭАК), невозможно сделать однозначный вывод об участии аминогруппы в ВВС в АК (и МЭАК). Однако величина ($\nu_a - \nu_s$) для АК и МЭАК заметно выше, чем в 4−NH_2−БК. Из этого факта можно сделать предположение, что критерием участия аминогруппы в ВВС могут быть не значения ν_s и (или) ν_a, а величина ($\nu_a - \nu_s$). Для выяснения этого вопроса были получены спектры разбавленных растворов в CCl_4 анилина и 2−NO_2−анилина, а также привлечены данные работы [4]. Полученные результаты представлены в табл.1, из которой можно видеть, что в анилине, 3−NO_2−, 4−NO_2−анилинах, в которых нет ВВС, значение (ν_a−ν_s) составляет 84 − 89 см$^{-1}$ и близко к значению 92 см$^{-1}$ в 4−NH_2−БК. В 2−NO_2−анилине, в котором имеется ВВС N−H…O−H [5], ($\nu_a - \nu_s$) имеет значение 120 см$^{-1}$ (в [4] получено 114 см$^{-1}$). Для АК и МЭАК значение (ν_a−ν_s) составляет 126 − 131 см$^{-1}$. На основании поведения величины (ν_a−ν_s) можно сделать вывод, что в АК (и МЭАК) имеется ВВС N−H…O=C и в выбранных условиях эксперимента реализуется структура АК **I** и отсутствует структура **II**. Этот вывод согласуется с данными работы [3]. Нагревание растворов АК и МЭАК до максимальной рабочей температуры 72°C не приводит к разрыву ВВС.

В спектре в области νC=O (рис.1) видны две интенсивные полосы с частотами 1674 и 1712 см$^{-1}$. Повышение температуры и разбавление раствора приводит к увеличению интенсивности полосы 1712 см$^{-1}$ и уменьшению интенсивности полосы 1674 см$^{-1}$. Картина изменения интенсивностей полос νC=O такая же, как и для других карбоновых кислот [6-8]. Это позволяет идентифицировать полосы 1674 и 1712 см$^{-1}$ как полосы, принадлежащие димерам ($\nu_д$C=O) и мономерам ($\nu_м$C=O) АК соответственно. На основании работы [7] эти димеры можно считать циклическими.

Полосы νC=O АК имеют аномально низкую частоту, что свидетельствует об участи атома кислорода в образовании ВВС C=O…H−N, как это имеет место в фенилантраниловой кислоте [9]. Из этих фактов следует, что в использованных экспериментальных условиях мономеры АК имеют структуру **I** и не реализуются структуры **II – IV**. В использованных экспериментальных условиях не обнаруживаются в спектроскопически заметных количествах самоассоциаты типа N−H…O=C. Это может быть обусловлено следующими причинами.

1. При образовании ВВС N−H…O=C происходит увеличение электронной плотности на атоме водорода второй группы N−H и протонодонорная способность этой группы уменьшается.

2. Разбавленный раствор и (или) стерические факторы не способствуют образованию таких самоассоциатов.

3. Интервал температур 22−72 ^{o}C оказывается достаточно высоким и препятствует образованию таких самоассоциатов.

ВЫВОД

На основании анализа значений частот полос νC=O, νNH, νOH, концентрационной и температурной зависимостей интенсивностей этих полос и литературных данных следует, что в разбавленных растворах в CCl_4 имеется равновесие между мономерами и димерами АК, причем как мономеры, так и димеры АК находятся в конформации с ВВС N−H…O=C.

Список литературы

1. Вилков Л. В. Определение геометрического строения свободных молекул / Л. В .Вилков, В. С. Мастрюков, Н. И. Садова. – Л.: Химия, 1978. − 224 с.
2. Шейх-Заде М. И. Исследование протонодонорной способности фенилантраниловой кислоты по ИК спектрам поглощения / М. И. Шейх-Заде // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». − 2007. – т. 20 (59). − № 4. − С. 167-171.
3. Денисов Г. С. Неаддитивные свойства водородных связей в комплексах сложного состава / Г. С. Денисов, Л. А. Кузина // Сб. Молекулярная спектроскопия. – Вып. 8. − Л.: ЛГУ, 1990. − С.127-160.
4. Жукова В. А. Влияние водородных связей на колебания группы NH_2. I. Частоты валентных колебаний / В. А. Жукова, И. И. Шманько // Опт. и спектр. − 1968. − Т. 25. − № 4. − С.500-505.
5. Bekarek N. A contribution to study of hydrogen bond and solvation of o-nitroaniline / N. Bekarek, J. Jirkovsky // Coll. Czech. Chem. Commun. − 1976. − Vol. 41. − № 4. − P. 1177-1181.
6. Allen G. An infrared study of the association of benzoic acid in the vapour phase and in dilute solution in non-polar solvents / G. Allen, J. G. Watkinson, K. H. Webb // Spectrochim. Acta. − 1966. − Vol. 22. − № 5. − P. 807-814.
7. Hanrahan E. S. Dimerization of p-substituted benzoic acids / E. S. Hanrahan, B. D. Bruce // Spectrochim. Acta. − 1967. − Vol. 23A. − № 9. − P. 2497-2503.
8. An infrared study of the association of benzoic acid and of deuterobenzoic acid in carbon tetrachloride solution / P. K. Glasoe, S. Hallock, M. Hove [et al] // Spectrochim. Acta. − 1971. − Vol. 27A. − № 11. −P. 2309-2314.
9. Шейх–Заде М. И. Спектроскопическое исследование молекулярных форм фенилантраниловой кислоты / М. И. Шейх–Заде // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия» −2006 − Т. 19 (58). − № 4. − С. 241-244.

Шейх-Заде М.І. **Дослідження молекулярних форм антранілової кислоти в розбавлених розчинах у CCl_4** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія". – 2009. – Т.22 (61). – № 2. –. – С. 207-211.

Одержано інфрачервоні спектри розчинів антранілової кислоти у CCl_4 у області валентних коливань гідроксильної, аміно− і карбонільної груп в інтервалі температур 22−72 °С. Проведено ототожнення смуг νOH, νNH, νC=O. З аналізу значень частот смуг, концентраційної і температурної залежностей інтенсивності смуг, зроблено висновок про конформації мономерів і димерів цієї кислоти за вибраних умов експерименту.

Ключові слова: інфрачервоні спектри, антранілова кислота, конформація, мономері, димері.

Sheikh-Zade M.I. **A study of the antronylic acid molecular forms in dilute solutions in CCl_4 //** Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 207-211.

The infrared spectrum solutions of antronylic acid in CCl_4 were obtained in the field of valency vibrations of hydroxylic, amino− and carbonyl groups in the temperature interval of 22−72 °C. The identification of νOH, νNH, νC=O bands have been made. From the analysis of the values of the bands frequency, concentration and temperature dependences of the intensity of bands the conclusion has been made about the formation of monomers and dimers of this acid under the conditions chosen for this experiment.

Keywords: infrared spectrum, antronylic acid, conformation, monomers, dimers.

Поступила в редакцию 05.05.2009 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 22 (61). 2009. № 2. С. 212-219.

УДК 546.562 + 547.288.3 + 544.163.3

МАГНИТНЫЕ СВОЙСТВА СПЕЙСЕРИРОВАННЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕДИ(II)

Шульгин В.Ф., Богомяков А.С., Конник О.В.

Описаны результаты исследования методами статической магнитной восприимчивости трех спейсерированных комплексов меди(II) с ацилгидразонами карбоновых кислот: биядерного комплекса салицилиденгидразона глутаровой кислоты, биядерного комплекса ацилдигидразона изофталевой кислоты и 2-гидрокси-5-метилацетофенона, а также триядерного комплекса салицилиденгидразона тримезиновой кислоты. Зафиксированы слабые обменные взаимодействия между парамагнитными центрами с величиной обменного параметра $-2J$ порядка 1-2 см$^{-1}$. Образование межмолекулярны оксомостиков между катионами меди приводит к дополнительному слабому взаимодействию между комплексными молекулами как ферро-, так и антиферромагнитного типа ($zJ' \approx \pm 0{,}5$ см$^{-1}$).

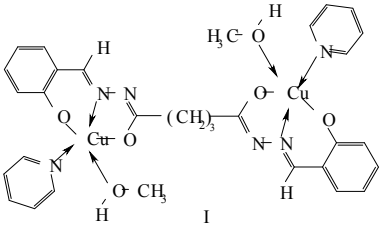
Ключевые слова: медь(II) комплексы, ацилгидразоны, магнетохимия.

ВВЕДЕНИЕ

В литературе описано несколько типов биядерных комплексов меди(II) с ацилгидразонами предельных дикарбоновых кислот [1, 2]. Менее изучены биядерные комплексы меди с ацилгидразонами ароматических дикарбоновых кислот [3]. Особенностью комплексов данного типа является реализация слабых обменных взаимодействий между парамагнитными центрами, наиболее ярким проявлением которых является регистрация в спектрах ЭПР сверхтонкой структуры (СТС) от двух ядер меди, оба природных изотопа которой имеют ядерный спин 3/2. Оценка параметра обменного взаимодействия (*-2J*) по данным спектроскопии ЭПР приводит к величине порядка нескольких обратных сантиметров [1, 2]. Прямое определение энергии обменного взаимодействия в комплексах данного типа не проводилось.

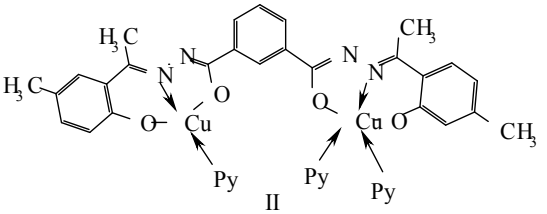
Задачей настоящей работы является магнетохимическое исследование спейсерированных комплексов меди(II). В качестве объекта исследования выбраны комплексы, строение которых объективно установлена по данным рентгеноструктурного анализа.

1. Координационное соединение меди(II) с ацилгидразоном глутаровой кислоты и салицилового альдегида состава $[Cu_2L{\cdot}2Py{\cdot}2CH_3OH]{\cdot}2H_2O$ (комплекс **I**) [4, 5].



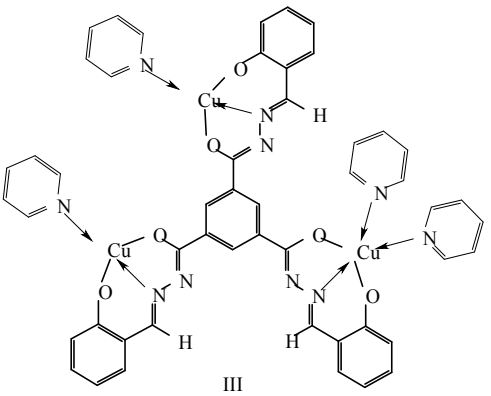
I

2. Координационное соединение меди(II) с ацилгидразоном изофталевой кислоты и 2-гидрокси-5-метилацетофенона [$Cu_2L{\cdot}3Py$] (комплекс **II**) [6].



II

3. Координационное соединение меди(II) с салицилиденгидразоном тримезиновой кислоты [$Cu_2L{\cdot}4Py]{\cdot}2CH_3OH$ (комплекс **III**) [7].



III

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые координационные соединения синтезировали по описанным ранее методикам [5 – 7]. Магнетохимические измерения проводили в Институте «Международный томографический центр» СО РАН на MPMS*XL* SQUID-магнетометре (“Quantum Design”) в интервале температур 2-300 K в магнитном поле 5 кЭ. При вычислении молярной магнитной восприимчивости (χ'_M) вводили поправку на диамагнетизм атомов по аддитивной схеме Паскаля [8], конституционные поправки не вводились.

Эффективный магнитный момент рассчитывали по следующей формуле:

$$\mu_{эфф} = \sqrt{8 \cdot \chi'_м \cdot T} \qquad (1)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным рентгеноструктурного анализа координационное соединение меди(II) с бис(салицилиден)гидразоном глутаровой кислоты (комплекс **I**) имеет мономерное строение и состоит из дискретных биядерных молекул с расстоянием медь…медь 9,182 Å. Короткие контакты между катионами меди в кристаллической структуре не обнаружены; наименьшее межмолекулярное расстояние Cu…Cu составляет 5,168 Å [4, 5].

Величина статической магнитной восприимчивости комплекса **I** не зависит от напряженности магнитного поля и следует закону Кюри-Вейса [8] с величинами эмпирических параметров C = 0,70 см^3 К/моль и θ = 0,22 К (табл. 1). Эффективный магнитный момент катиона меди(II) при 300 К составляет 1,65 М.Б. и близок к ожидаемой для S = 1/2 величине 1,73 М.Б. Понижение температуры до 2 К приводит к снижению эффективного магнитного момента до 1,16 М.Б. (рис. 1).

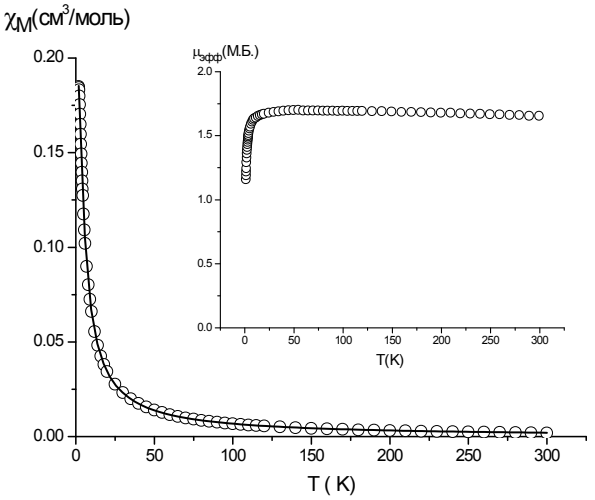


Рис. 1. Температурная зависимость магнитной восприимчивости и эффективного магнитного момента катиона меди(II) для комплекса **I**.

При интерпретации экспериментальных данных была использована модель, описывающая взаимодействие между двумя катионами меди(II) с помощью гамильтониана $\mathbf{H} = -2J\cdot\mathbf{S_1}\cdot\mathbf{S_2}$ и модифицированного уравнения Блини-Бауэрса [9]:

$$\chi = \frac{N_A\mu_B^2 g^2}{kT}\frac{1}{3+\exp(-2J/kT)}(1-p)+\frac{N_A g^2\mu_B^2}{4kT}p+Na \qquad (2)$$

где: g, μ_B, $-2J$, p, Nα соответственно, g-фактор, магнетон Бора, энергия синглет-триплетного расщепления, примесь парамагнитного мономера и температурно-независимый парамагнетизм ($60\cdot10^{-6}$ для катиона меди). Остальные величины имеют свое обычное значение. Минимизация функции $R = \Sigma(\chi_{набл.} - \chi_{расч.})^2/\Sigma(\chi_{набл.})^2$ дает следующие значения варьируемых параметров: $-2J$ = 2,0 см$^{-1}$; g = 1,97; p = 0,01.

Координационное соединение меди(II) с ацилгидразоном изофталевой кислоты и 2-гидрокси-5-метилацетофенона [$Cu_2L\cdot3Py$] (комплекс **II**) имеет биядерное строение и содержит два структурно неэквивалентные атомы меди, расположенные на расстоянии 8,56 Å друг от друга [6]. Атом меди Cu(1) дополнительно координирует феноксильный атом кислорода соседнего комплекса (длина связи Cu(1)-O(1a) составляет 2,699 Å). Данный вид взаимодействия приводит к ассоциации биядерных комплексов (рис. 2). В центросимметричном димерном

фрагменте Cu_2O_2 атомы меди расположены на расстоянии 3,409 Å, которое заметно превосходит обычное расстояние между катионами меди(II) в биядерных комплексах на основе салицилиденгидразонов (≈ 3,0 Å) [10].

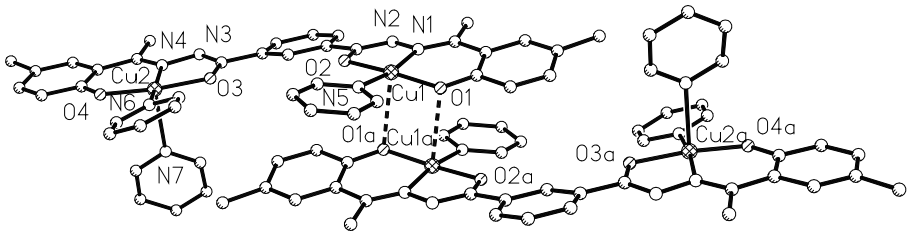


Рис. 2. Димерный фрагмент кристаллической структуры комплекса **II**.

Эффективный магнитный момент молекулы комплекса **II** при 300 К составляет 2,65 М.Б. и несколько превышает величину 2,45 М.Б., ожидаемую для двух невзаимодействующих катионов меди(II). Понижение температуры до 2 К приводит к снижению величины $\mu_{эфф.}$ до 2,35 М.Б., что свидетельствует о реализации слабых антиферромагнитных взаимодействий между парамагнитными центрами.

Моделирование температурной зависимости магнитной восприимчивости проведена в рамках димерной модели, учитывающей дополнительное взаимодействие между димерами как возмущение. Выражение для расчета магнитной восприимчивости в рамках данной модели имеет следующий вид [11]:

$$\chi_M = 2\,x\left[\frac{N_A \mu_B^2 g^2 G(J,T)}{kT-\theta}\right] \qquad (3)$$

$$\text{где } \theta = zJ'G(J,T); \quad G(J,T) = \left[3+\exp\left(\frac{-2J}{kT}\right)\right] \qquad (4)$$

Теоретическое моделирование дает значения g = 2,131 и -2J = 0,6 см$^{-1}$. Величина zJ' составляет -0,6 см$^{-1}$ и свидетельствует о слабом межмолекулярном взаимодействии антиферромагнитного типа. Данный результат может показаться несколько неожиданным, поскольку можно было ожидать, что обменное взаимодействие во фрагменте Cu_2O_2 будет более сильным, чем взаимодействие в спейсерированном биядерном комплексе. Однако следует отметить, что аналогичная ситуация наблюдалась для спейсерированного комплекса с диметиленовым спейсером, в котором биядерные субъединицы связаны в полимерную цепь за счет образования оксомостиков между катионами меди(II) [12]. При этом параметр обменного взаимодействия (-2J) между катионами меди через алифатический спейсер оценен как 15,8 см$^{-1}$, в то время как величина –2J для обменного взаимодействия в димерном фрагменте Cu_2O_2 определена как 3,0 см$^{-1}$.

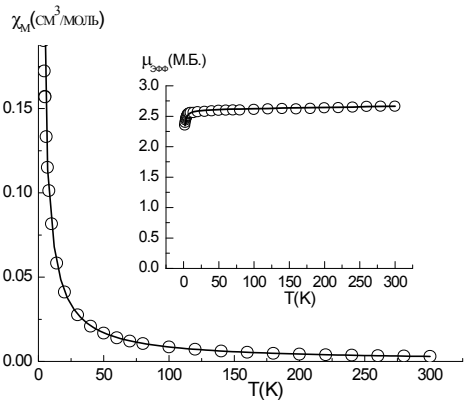


Рис. 3. Температурная зависимость магнитной восприимчивости и эффективного магнитного момента для комплекса **II**.

По данным рентгеноструктурного анализа соединение **III** содержит три катиона меди, координационные полиэдры которых, связаны ароматическим спейсером в триядерный комплекс. Атомы меди структурно неэквивалентны, расстояния между ними составляют 9,667 Å для Cu1(1)… Cu(2), 9,371 Å для Cu(1)…Cu(3) и 9,414 Å для Cu(2)…Cu(3) соответственно. Атом Cu(1) дополнительно координирует фенольный атом кислорода соседнего комплекса (длина связи Cu(1)-O(1a) составляет 2,555 Å). Это взаимодействие приводит к объединению триядерных комплексов в “димер тримеров” (рис. 4). В центросиметричном димерном фрагменте атомы меди расположены на расстоянии 3,348 Å [7].

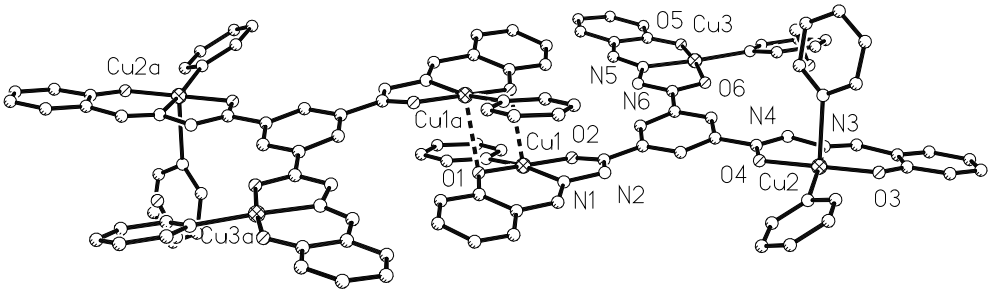


Рис. 4. Димерный фрагмент кристаллической структуры комплекса **III**.

Эффективный магнитный момент комплекса **III** при 300 К составляет 3,38 М.Б., что незначительно выше величины, ожидаемой для трех несвязанных катионов меди(II) (3,23 М.Б. при характерной для комплексов данного типа величине g = 2,15). Понижение температуры до 2 К приводит к снижению величины $\mu_{эфф.}$ до 2,85 М.Б. (рис. 5).

Гамильтониан, описывающий магнитные взаимодействия в треугольном кластере, имеет следующий вид:

$$\mathbf{H} = -2J_{12}(\mathbf{S_1}\cdot\mathbf{S_2}) - 2J_{13}(\mathbf{S_1}\cdot\mathbf{S_3}) - 2J_{23}(\mathbf{S_2}\cdot\mathbf{S_3}) \quad (5)$$

Поскольку задача нахождения собственных значений гамильтониана данного вида не имеет строго аналитического решения, для описания температурной зависимости магнитной восприимчивости и эффективного магнитного момента была использована упрощенная модель взаимодействия между тремя эквивалентными катионами меди(II) в треугольном кластере:

$$\mathbf{H} = -2J\cdot(\mathbf{S_1}\cdot\mathbf{S_2} + \mathbf{S_1}\cdot\mathbf{S_3} + \mathbf{S_2}\cdot\mathbf{S_3}) \quad (6)$$

Межмолекулярное взаимодействия между трехядерными комплексами учитывалось как возмущение. Формулы для расчета значений молярной магнитной восприимчивости в рамках данной модели имеют следующий вид [11]:

$$\chi = \frac{N_A \mu_B^2 g^2 F(J,T)}{4k(T-\theta)} \quad (7)$$

$$\text{где } \theta = \frac{zJ' F(J,T)}{k} \text{ и } F(J,T) = \left[\frac{1+5\exp\left(\frac{3(-2J)}{2kT}\right)}{1+\exp\left(\frac{3(-2J)}{2kT}\right)}\right] \quad (8)$$

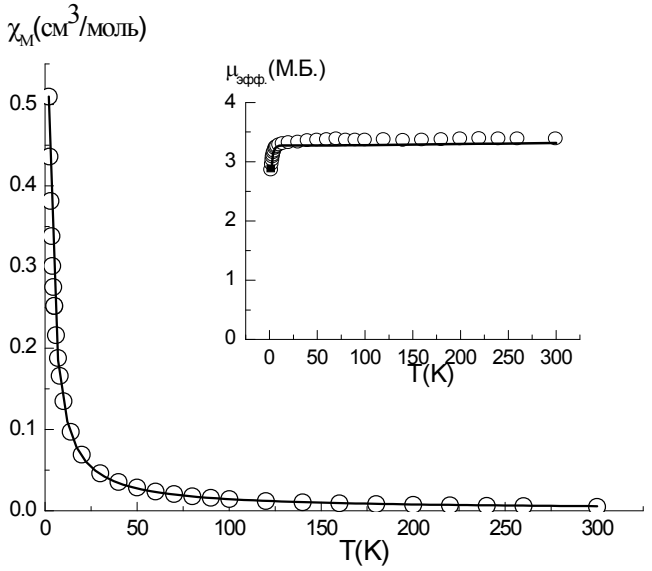


Рис. 3. Температурная зависимость магнитной восприимчивости и эффективного магнитного момента для комплекса **III**.

В результате получены следующие значения варьируемых параметров: $-2J = 2{,}2$ см$^{-1}$, $g = 2{,}164$ и $zJ' = 0{,}45$ см$^{-1}$. Полученные данные согласуются с

антиферромагнитным характером обменного взаимодействия внутри спейсерированного комплекса меди и указывают на слабое ферромагнитное взаимодействие между спейсерированными тримерами. Следует отметить, что слабые ферромагнитные взаимодействия между катионами меди(II), связанными межмолекулярными оксомостиками в димерный фрагмент Cu_2O_2, ранее наблюдались как для димерных, так и для тримерных комплексов [11]. Этот результат не согласуется с данными, полученными для комплекса **II**, но находит логическое объяснение с учетом сильной угловой зависимости обменных взаимодействий в димерных комплексах меди(II) [13] и заметных различия в геометрических параметрах фрагмента Cu_2O_2 для соединений **II** и **III** [6,7].

Таблица 1.

Результаты исследования спейсерированных комплексов меди(II) методом статической магнитной восприимчивости.

Соединение	Параметр					*R*
	C,см^3·К/моль	*θ,* К	*g*	*-2J,* см$^{-1}$	*zJ′,* см$^{-1}$	
I	0,70	0,22	1,97	2,0	-	$1{,}7\cdot10^{-3}$
II	0,89	-1,69	2,131	0,6	-0,6	$1{,}35\cdot10^{-5}$
III	1,31	-1,28	2,164	2,2	0,45	$5{,}60\cdot10^{-5}$

ВЫВОД

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о реализации в спейсерированных димерных и тримерных комплексах меди(II) слабых обменных взаимодействий между парамагнитными центрами с величиной обменного параметра – *2J* порядка 1-2 см$^{-1}$. Ассоциирование комплексов за счет образования оксо-мостиков между катионами меди приводит к дополнительному слабому взаимодействию как ферромагнитного, так и антиферромагнитного типа ($zJ' \approx \pm 0{,}5$ см$^{-1}$).

Список литературы

1. Larin G. M. Weak Spin-Spin Exchange Coupling in Copper(II) Dimers with Long Copper-Copper Distances / G. M. Larin, V. F. Shul'gin // Russian Journal of Inorganic Chemistry. – 2006. - Vol. 51. - Suppl.1. - P. S28-S48.
2. Ларин Г. М. Обменные взаимодействия в биядерных комплексах меди(II) с ацилдигидразонами предельных дикарбоновых кислот / Г. М. Ларин, В. В. Минин, В. Ф. Шульгин // Успехи химии. – 2008. - Т. 77. - № 5. - С. 477–491.
3. Спектры ЭПР и строение биядерных комплексов меди(II) с ацилдигидразонами бензолдикарбоновых кислот / Г. М. Ларин, А. Н. Гусев, Ю. В. Труш [и др.] // Известия РАН. Серия химическая. – 2007. - № 10. - С. 1898-1905.
4. Larin G. M. Weak long-range spin-spin exchange interactions in a copper(II) complex / G. M. Larin, V. F. Shul'gin, E. A. Sarnit // Mendeleev Commun. – 1999. – № 4. - P. 129-130.
5. Ларин Г. М. Структура и спектр ЭПР биядерного комплекса меди(II) с бис (салицилиден)гидразоном глутаровой кислоты / Г. М. Ларин, В. Ф. Шульгин, Е. А. Сарнит // Журн. неорган. химии. – 2000. - Т. 45. - № 6. – С. 1010-1015.
6. Шульгин В. Ф. Исследование кристаллической и молекулярной структуры комплекса меди(II) с диацилгидразоном изофталевой кислоты и 2-гидрокси-5-метилацетофенона / В. Ф. Шульгин, Э. Б.

Русанов, Ю. В. Труш // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология и химия». – 2006. - Т. 20 (59). - № 3. - С. 134-141.
7. Синтез и исследование молекулярной структуры триядерного комплекса меди(II) с трис (салицилиденгидразоном) 1,3,5-бензолтрикарбоновой кислоты / В. Ф. Шульгин, Э. Б. Русанов, Р. И. Гуртовой [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология и химия». – 2009. - Т. 23 (61) , № 1. – С. 186-192.
8. Ракитин Ю. В. Современная магнетохимия / Ю. В. Ракитин, В. Т. Калинников. – СПб.: Наука, 1994. – 276 с.
9. Synthesis, structures and properties of the dinuclear copper(II) complexes triple bridged by two oximato and pyrazolato or one phthalazine / Akiro Yatani, Mie Fujii, Yasuo Nakao [et al] // Inorg. Chem. Acta. – 2001. – Vol. 316. – P. 127-131.
10. Коган В. А. Стереохимия обменного фрагмента M_2O_2 и магнитные свойства биядерных комплексов на основе гидразонов / В. А. Коган, В. В. Луков // Координац. химия. - 1993. - Т. 19. - № 6. - С. 476-486.
11. Ferromagnetic trinuclear carbonato-bridged and tetranuclear hydroxo-bridged Cu(II) compounds with 4,4′-dimethyl-2,2′-bipyridine as ligand. X-Ray structure, spectroscopy and magnetism / G. A. van Albada, I. Mutikainen, O. Roubeau [et al] // Inorg. Chim. Acta. – 2002. – Vol. 331. - P. 208-215.
12. Exchange Interaction in Multinuclear Transition-Metal Complexes. 3. Synthesis, X-Ray Structure, and Magnetic Properties of $Cu_2L(CH_3COO)_2{\cdot}CH_3OH$ (L^{2-} = Anion of N,N′-Bis(2-((o-hydroxy-benzhydryliden)amino)ethyl)-1,2-ethanediamine), a One-Demensional Heisenberg Antiferromagnet Having Through-Bond Coupled Copper(II) Ions / B. Chiari, W. E. Hatfild, O. Piovesana [et al.] // Inorg. Chem. - 1983. - Vol. 22. - № 10. - P. 1468-1473.
13. Ракитин Ю. В. Угловая зависимость сверхобмена / Ю. В. Ракитин, В. В. Волков, В. Т. Калинников // Координац. химия. – 1981. – Т. 7. - № 11. – С. 1622-1626.

Шульгін В.Ф., Богомяков А.С., Коннік О.В. **Магнітні властивості спейсерованих комплексів купруму(II)** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Сєрія „Біологія, хімія”. – 2009. – Т.22 (61). – № 2. –. – С. 212-219.

Описано результати дослідження методами статичної магнітної сприйнятливості трьох спейсерованих комплексів купруму(II) з ацилгідразонами карбонових кислот: біядерного комплексу біс(саліциліден)гідразону глутарової кислоти, біядерного комплексу ацилдигідразону ізофтальової кислоти і 2-гідрокси-5-метилацетофенону, а також триядерного комплексу саліциліденгідразону тримезинової кислоти. Зафіксовано слабкі обмінні взаємодії між парамагнітними центрами с величиною обмінного параметру $-2J$ близько 1-2 $см^{-1}$. Утворення міжмолекулярних оксомістків між катіонами купруму приводе до додаткової слабкої взаємодії між комплексними молекулами як феро-, так і антиферомагнитного типу ($zJ' \approx \pm 0{,}5$ $см^{-1}$).

Ключові слова: папаїн купрум(II) комплекси, ацилгідразони саліцилового альдегіду, магнетохімія.

Shul′gin V.F., Bogomyakov A.S., Konnic O.V. **Magnetism of the spacer-armed copper(II) complexes** // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2009. – V.22 (61). – № 2. – P. 212-219.

Results of magnetic investigation of three copper(II) spacer-armed complexes with acylhydrazones of the carboxylic acids (dinuclear complex of the glutaric acid salicylidenhydrazone, dinuclear complex of the isophtalic acid and 2-hydroxyacetophenone and trinuclear complex of the trimesic acid salicylidenhydrazone) were described. The weak exchange coupling with $-2J$ = 1-2 cm^{-1} were detected. The intermolecular oxo-bridges formation leads to overall ferromagnetic or antiferromagnetic interactions ($zJ' \approx \pm 0{,}5$ cm^{-1})..

Keywords: copper(II) complexes, acylhydrazones, magnetism.

Поступила в редакцию 05.05.2009 г.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Аблаева Урьяне Диляверовна	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, студентка 3 курса биологического факультета, специализантка кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: katsea87@mail.ru.
Астапенко Наталья Аркадьевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652)230392, e-mail: nataly-ast@inbox.ru
Баранова Марина Михайловна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 608-605.
Бирюкова Елена Александровна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ассистент Центра коррекции функционального состояния, тел. (0652) 602103, e-mail: biotema@rambler.ru.
Богомяков Артем Степанович	Учреждение Российской академии наук, Институт «Международный томографический центр», e-mail: bus@tomo.nsc.ru.
Бойко Елена Федоровна.	Институт эфиромасличных и лекарственных растений УААН, аспирант, тел. (0652) 560007, e-mail: boyko_el_f@mail.ru.
Бугара Александр Михайлович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652) 608485.
Вяткін Олександр Костянтинович	ДП «Дніпростандартметрологія», заступник директора з сертифікації, тел. (0562) 3702846
Гамма Татьяна Викторовна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: tgamma@ukr.net
Горная Оксана Ивановна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: gornaya-o@ukr.net
Демцун Наталья Александровна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 608603, e-mail: timur@crimea.edu.

Древетняк Наталья Андреевна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, магистр кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 608603.

Емельянова Анна Александровна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, специализантка кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652) 608465.

Епишкин Игорь Владиимирович — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: tgamma@ukr.net

Иванов Сергей Петрович — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и рационального природопользования, тел. (0652) 637886, e-mail: spi2006@list.ru

Картак Олександр Анатолійович — Київська клінічна лікарня №6, фельдшер медицини, тифлопедагог.

Катюшина Оксана Валериевна — Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, магистр кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: katsea87@mail.ru

Коваленко Анна Алексеевна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: aurea86@mail.ru.

Конарева Ирина Николаевна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии, e-mail: viola@crimea.edu, тел.(0652) 440030.

Конник Олег Владимирович — Севастопольский научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации, директор, кандидат химических наук, доцент, e-mail: stmet@sebastopol.ua

Коренюк Иван Иванович — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: tgamma@ukr.net.

Клименко Елена Николаевна — Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, магистр кафедры ботаники, e-mail: btc@tnu.crimea.ua

Куличенко Александр Михайлович — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 63-75-56, e-mail: kulichenkoa@mail.ru

Курьянов Владимир Олегович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского кандидат химических, доцент кафедры органической химии, тел. (0652) 608465.
Куценко Татьяна Васильевна	Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, e-mail: krisa@univ.kiev.ua.
Лицов Дмитрий Игоревич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент 3-го курса биологического факультета, тел. (0652) 637556/
Лысякова Наталья Юрьевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники, e-mail: lno@ukr.net.
Ляшенко Валентина Петрівна	Дніпропетровський національний університет, біолого-екологічний факультет, доктор біологічних наук, професор; завідувач кафедри фізіології людини і тварин, тел. (056) 7254259, e-mail: lyashenko@mail.dsu.dp.ua
Маркіна Марина Володимирівна	Дніпропетровський національний університет, біолого-екологічний факультет, пошукач кафедри фізіології людини і тварин, тел.. (0562) 7604860.
Махин Сергей Анатольевич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии, тел. (0652) 637556, e-mail: smakhin@inbox.ru
Мельникова Оксана Зеноновна	Запорожский государственный медицинский университет; кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской физики, биофизики и высшей математики, тел. (061) 2333156, e-mail: melalex@mail.ru
Нікіпелова Олена Михайлівна	Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології, Український державний центр стандартизації і контролю якості природних і преформованих засобів; кандидат хімичних наук, керівник, e-mail: center@kurort.odessa.net, тел. (048) 725-02-92
Никифоров Иван Ростиславович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 608-605.
Никольская Виктория Александровна	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии, тел. (0652) 608090
Омельченко Александр Владимирович	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, ведущий специалист, младший научный сотрудник кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652) 608485, e-mail: omesavl@ukr.net.

Отурина Ирина Павловна — Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652) 608485.

Павленко Владимир Борисович — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0562) 637556, e-mail: pavlenkovb@ crimea.edu.

Раваева Марина Юрьевна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, ассистент Центра коррекции функционального состояния человека, тел. (0652) 230290, e-mail: mravaeva@ukr.net.

Репетий Мария Игоревна — Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, студентка 3 курса биологического факультета, специализантка кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: katsea87@mail.ru

Рубановская Татьяна Викторовна — Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, студентка биологического факультета, специализантка кафедры биохимии, e-mail: Belinda1987_@mail.ru.

Руденко Анатолій Іванович — Дніпропетровський інститут гастроентерології, зав. науковою лабораторією, тел. (0562) 221816, (0562) 270824

Романенко Олександр Володимирович — Національний педагогічний університет ім. М. П. Драгоманова, інститут фізичного виховання та спорту, кандидат педагогічних наук, доцент кафедри біологічних основ фізичного виховання та спортивних дисциплін, адреса: 02097, Київ, вул. Лісківська буд. 28, кв. 129.

Романовская Ирина Игоревна — Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, кандидат химических наук, доцент, заведующая лабораторией отдела медицинской химии, Одесса, 65080, Люстдорфская дор., 86.

Симагина Наталья Олеговна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники, e-mail: simagina_nataly@mail.ru.

Темурьянц Наталья Арменаковна. — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 608603, e-mail: timur@crimea.edu.

Трибрат Наталья Сергеевна — Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, ассистент Центра коррекции функционального состояния человека, e-mail: tribratnatalia@rambler.ru.

Туманянц Каринэ Николаевна	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, младший научный сотрудник по ПНИЛ, тел. (0652) 608603, e-mail: timur@crimea.edu.
Филимонова Наталья Борисовна	Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, кандидат физико-математических наук; старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, e-mail: filimonova@univ.kiev.ua.
Фокина Юлия Олеговна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 637556, e-mail: fokina1985@mail.ru.
Хусаинов Денис Рашидович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 630690, e-mail: tgamma@ukr.net.
Чёрный Сергей Васильевич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник по ПНИЛ, e-mail: neurolab@mail.ru.
Чмелева Светлана Ивановна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652) 608485
Чуян Елена Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии человека и животных и биофизики, директор Центра коррекции функционального состояния человека, e-mail: elena-chuyan@rambler.ru
Шейх–Заде Мамет Исмет	Крымский инженерно-педагогический университет, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры трудового обучения, e-mail:csepu@ gala.net, тел. (0652) 249-495.
Шульгин Виктор Федорович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей химии, тел. (0652) 608160, e-mail: vshul@crimea.edu.
Якимова Ольга Валерьевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка биологического факультета, специализантка кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652) 608485, e-mail: olyyakimova@yandex.ru.
Ярмолюк Наталья Сергеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 608603, e-mail: nat_yarm@mail.ru.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Астапенко Н.А.
ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ОПТИМИЗАЦИЮ ПРОЦЕССА ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН *CEPHALANTHERA DAMOSONIUM* (*MILL.*) *DRUCE* (*ORCHIDACEAE*) 3

Бойко Е.Ф.
ORIGANUM VULGARE L. И *ORIGANUM TYTTANTHUM* GONTSCH. КАК ЛЕКАРСТВЕННЫЕ, ЭФИРОМАСЛИЧНЫЕ, ПРЯНО-АРОМАТИЧЕСКИЕ И ДЕКОРАТИВНЫЕ РАСТЕНИЯ 9

Гамма Т.В., Епишкин И.В., Коренюк И.И., Аблаева У.Д, Репетий М.И., Хусаинов Д.Р., Катюшина О.В.
ПСИХОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕНЗИМИДАЗОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ СТРЕССА У КРЫС.....16

Демцун Н.А., Темурьянц Н.А., Баранова М.М.
ДИНАМИКА СКОРОСТИ ДВИЖЕНИЯ ПЛАНАРИЙ РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ 24

Демцун Н.А., Туманянц К.Н., Темурьянц Н.А.
ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ НА РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПЛАНАРИЙ DUGESIA TIGRINA 33

Иванов С.П.
РЕКОНСТРУКЦИЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ ПЧЕЛ-МЕГАХИЛИД (HYMENOPTERA: MEGACHILIDAE) НА ОСНОВЕ ЭВОЛЮЦИОННОГО СЦЕНАРИЯ РАЗВИТИЯ ИХ ГНЕЗДОСТРОИТЕЛЬНЫХ ИНСТИНКТОВ.....40

Коваленко А.А., Черный С.В., Павленко В.Б.
ВЛИЯНИЕ ВИЗУАЛЬНЫХ ЭМОЦИОГЕННЫХ СТИМУЛОВ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ВЫЗВАННЫХ ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ 58

Конарева И.Н.
ВЛИЯНИЕ СЕДАТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ЭМОЦИОНАЛЬНУЮ СФЕРУ ЧЕЛОВЕКА.....67

Лысякова Н.Ю., Клименко Е.Н.
ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖЕНСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЫ ORCHIS PALLENS.....72

Лысякова Н.Ю., Симагина Н.О.
ДИНАМИКА СИМБИОТИЧЕСКИХ И АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ У КОРНЕВИЩНЫХ ВИДОВ ОРХИДЕЙ 78

Маркіна М.В., Ляшенко В.П., Руденко А.І., Вяткін О.К.
ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ КИСЛОТОУТВОРЮЮЧОЇ ФУНКЦІЇ ШЛУНКУ ЗА ІОННИМ СКЛАДОМ ЗМІШАНОЇ СЛИНИ У ОСІБ З ПАТОЛОГІЯМИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ТА У ЗДОРОВИХ ОСІБ. 86

Мельникова О. З., Ляшенко В. П.
ИССЛЕДОВАНИЕ МЕДИАТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ МОДУЛЯЦИИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ ФОНОВОЙ СУММАРНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭРГОТРОПНОЙ ЗОНЫ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС 92

Никольская В.А., Рубановская Т.В.
ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРИНСУЛИНЕМИИ НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС 103

Отурина И.П., Емельянова А.А., Курьянов В.О.
ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ..... 110

Павленко В.Б., Фокина Ю.О., Махин С.А., Лицов Д.И.
ЭЭГ-КОРРЕЛЯТЫ ПРОЦЕССА ПРИНЯТИЯ РЕШЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА..... 121

Романенко О. В., Картак О. А.
ПІДВИЩЕННЯ РУХОВОЇ АКТИВНОСТІ ДІТЕЙ ЗІ ЗНИЖЕНИМ ЗОРОМ ЗАСОБАМИ ЛІКУВАЛЬНОЇ ФІЗИЧНОЇ КУЛЬТУРИ 126

Філімонова Н.Б., Куценко Т.В.
ФАКТОРНИЙ АНАЛІЗ МІКРОСТРУКТУРИ ОПЕРАТИВНОЇ ПАМ'ЯТІ НА ЗОРОВІ ВЕРБАЛЬНІ ТА НЕВЕРБАЛЬНІ СТИМУЛИ У ЧОЛОВІКІВ ТА ЖІНОК 134

Фокина Ю.О., Куличенко А.М., Павленко В.Б.
ИЗМЕНЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНОЙ МОЩНОСТИ РИТМОВ ЭЭГ ЖИВОТНОГО ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ СЕАНСОВ БЕТА/ТЕТА ТРЕНИНГА..... 140

Чмелева С.И., Бугара А.М., Омельченко А.В., Якимова О.В.
ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ОЛЕАНДРА ОБЫКНОВЕННОГО (*NERIUM OLEANDER* L.) И ИХ АНАЛИЗ НА СОДЕРЖАНИЕ СЕРДЕЧНЫХ ГЛИКОЗИДОВ 145

Чуян Е.Н., Бирюкова Е.А., Раваева М.Ю., Никифоров И.Р.
ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА СТУДЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ..... 152

Чуян Е.Н., Горная О.И.
ОСОБЕННОСТИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ У ЮНОШЕЙ-СТУДЕНТОВ..... 166

Чуян Е.Н.. Трибрат Н.С., Раваева М.Ю., Древетняк Н.А.
ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЦЕССОВ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КРОВИ ВО ВРЕМЯ ДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.....175

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Нікіпелова О.М.
ВПЛИВ ВОДИ НА КОЛОЇДНО-СТРУКТУРНИЙ СТАН МУЛОВИХ СУЛЬФІДНИХ ПЕЛОЇДНИХ СИСТЕМ.....194

Романовская И.И.
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ АЛЛЕРГЕНОВ.....200

Шейх – Заде М.И.
ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ АНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РАЗБАВЛЕННЫХ РАСТВОРАХ В CCl_4.....207

Шульгин В.Ф., Богомяков А.С., Конник О.В.
МАГНИТНЫЕ СВОЙСТВА СПЕЙСЕРИРОВАННЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕДИ(II)...212

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ.....220

СОДЕРЖАНИЕ.....225