

Журнал основан в 1918 г.

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

Научный журнал

Серия “Биология, химия”

Том 26 (65). № 2

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
Симферополь, 2013

Редакционный совет журнала

«Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского»:

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

Члены Совета (редакторы серий и разделов серий):

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

Редакционная коллегия серии «Биология, химия»:

Раздел «Биология»:

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

Раздел «Химия»:

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

**Печатается по решению Ученого Совета Таврического национального университета
им. В.И. Вернадского, протокол № 6 от 19.06.2013 г.**

Подписано в печать 20.06.2013 формат 70x100/16
17,75 усл. п. л. 14,95 уч.-изд. л. Тираж 500. Заказ № 17/а.
Отпечатано в информационно-издательском отделе ТНУ,
пр. Вернадского 4, г. Симферополь, 95007

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

Науковий журнал. Том 26 (65), №2, Біологія, хімія.
Сімферополь, Таврійський національний університет ім. В.І.Вернадського, 2013
Журнал заснований у 1918 р.
Адреса редакції: пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007
Надруковано у інформаційно-видавничому відділі Таврійського національного університету
ім. В.І. Вернадського, пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007
<http://sn-biolchem.crimea.edu/>

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

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

Серия «Биология, химия». Том 26 (65). 2013. № 2. С. 3-9.

УДК 613.644

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ДЕЙСТВИЯ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СИСТЕМУ

Баличиева Д.В., Шинкаревский П.В.

*РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина
E-mail: petr-agu@mail.ru*

Анализируются отдалённые последствия влияния вибрации, шума, условий труда, рабочей позы, курения и алкоголизма на репродуктивную систему операторов самоходных машин, вышивальщиц тамбурного цеха и их потомство.

Ключевые слова: временная утрата трудоспособности, вибрация, шум, рабочая поза, курение, алкоголизм, репродуктивная система.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время доказано, что реакции целостного организма на самые разнообразные раздражители в значительной мере универсальны и стереотипны. Поэтому выбор адекватных информационных методов исследования должен основываться на современных представлениях о путях поступления информации о действующем раздражителе (специфический и неспецифический путь). Которые должны включать, помимо исследований вестибулярного и кожного анализаторов, также показатели функционального состояния нервной, сердечно-сосудистой, эндокринной систем, имеющих общебиологическое значение, так как суждение о вредности вибрации может быть сделано и по интегральным реакциям организма – степени развивающегося утомления и тяжести отдаленных последствий [1]. Неблагоприятные эффекты вибрации на организм человека характеризуются локальным действием на ткани и заложенные в них многочисленные экстеро- и интерорецепторы (прямой микротравмирующий эффект), а также опосредованно через центральную нервную систему на различные органы и системы [2].

Целью данной работы явился анализ медико-биологических критериев отдалённых последствий неблагоприятного действия вибрации на репродуктивную систему мужского и женского организмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе проведения анализа оценивались условия труда операторов самоходных машин (машинист экскаватора, оператор бульдозера, оператор бурового станка) и вышивальщиц тамбурного цехов. Возраст обследованных колебался в пределах $36,5 \pm 0,7$ – $42,5 \pm 0,9$, стаж в профессии: $13,9 \pm 0,4$ – $17,0 \pm 0,9$ лет.

Фактическое состояние условий труда оценивалось по физиолого-гигиенической паспортизации профессий и аттестации рабочих мест. Применена балльная оценка.

При подсчете баллов и оценке влияния изучаемого фактора на состояние организма учитывали уровень фактора, продолжительность его действия в течение рабочей смены. Баллы, установленные по степени вредности факторов, корректировали по формуле:

$$X_{\text{факт.}} = X_{\text{ст.}} \times T, \text{ где}$$

$X_{\text{ст}}$ – степень вредности фактора, установленная по гигиенической классификации труда;

T – отношение фактического времени действия данного фактора (по результатам хронометражных наблюдений) к общему времени рабочей смены. Если время действия фактора составляет 50% рабочей смены, то $T=1$.

Для комплексной оценки неблагоприятных эффектов действия вибрации рабочих мест, выявления степени переносимости доминантного фактора, характера состояния физиологических систем, адекватных воздействию вибрации, установления нарушений репродуктивной функции мужчин и женщин, выявления особенностей осложнения течения, беременности, родов и послеродового периода, здоровье и развитие ребенка проведены социологические исследования. Анкетированием (по разработанным специализированным опросникам) охвачены 923 человека, в том числе 532 мужчин и 391 женщина, работающих в условиях воздействия вибрации различных категорий.

Анализ заболеваемости проводили по дням временной утраты трудоспособности (ВУТ).

Интегральный показатель комплексной оценки факторов производственной среды определяли с помощью статистического балла степени вредности каждого фактора по формуле $\bar{B} \pm Sn$, где:

\bar{B} – среднеарифметическое значение показателя;

Sn – среднеквадратическое отклонение.

Для статистической обработки полученных данных использовали пакет статистических программ «Statistica 6.0». Используя критерий Колмогорова-Смирнова, оценивали соответствие распределений нормальному закону. Достоверность различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что труд машиниста экскаватора оценивается общей суммой баллов в 10,78, а по степени опасности и вредности

производственные факторы классифицируются следующим образом: вибрация – III степень; шум – II степень, вредные химические вещества, показатели микроклимата, тяжесть труда, рабочая поза до I степени опасности и вредности. Фактическое состояние условий труда машинистов экскаваторов, операторов бурового станка, бульдозера и вышивальщиц представлены в таблице 1.

Проведенный комплекс гигиенических, социологических, клинических и экспериментальных исследований показал, что репродуктивная система чувствительна и адекватно реагирует на неблагоприятное действие общей вибрации. Влияние вибрации рабочих мест на репродуктивную функцию опосредуется как через женский, так и мужской организм. Критериями влияния негативного фактора на женский организм является частота нарушений менструальной функции, самопроизвольных выкидышей, мертворождений, отклонения в антропометрических показателях новорождённых, заболевания детей раннем возрасте. Мужской организм реагирует угнетением половой функции, что выражается в достоверном увеличении частоты самопроизвольных выкидышей у их жён, не имевших контактов с вибрацией.

Таблица 1
Физиолого-гигиеническая оценка условий труда рабочих изученных профессий (в баллах)

№ пп	Профессии	Степень опасности и вредности производственных факторов						Общая сумма баллов	Количество обследованных
		Вибрация	Шум	Вредные химич. вещества	Микроклимат	Тяжесть труда	Рабочая поза, Напряж. труда		
1.	Машинист экскаватора	III	II	I	I	I	I	10,78	123
2.	Оператор бурового станка	III	II	I	I	I	I	7,38	112
3	Оператор бульдозера	III	II	I	I	I	I	8,43	165
4	Вышивальщица тамбурного цеха	III	II	I	I	I	I	8,99 - 10,78	391

Установлены аддитивный эффект по показателям частоты самопроизвольных выкидышей, мертворождений в случаях когда оба супруга работают в условиях воздействия вибрации. Всё это позволило рассчитать коэффициенты биологической эффективности вибрации при воздействии на репродуктивную функцию рабочих (табл. 2.). Так, виброопасная профессия супругов повышает риск для потомства по показателям массы новорождённого, частоте мертворождений, младенческой смертности до 4 раз, а также при сочетании с вредными привычками (курение, употребление алкоголя) до 8 раз.

Анализ интегрального показателя комплексной оценки факторов производственной среды выявил их достоверную связь с формированием общей заболеваемости и в отдалённых последствиях приводящих к временной утрате трудоспособности ($p \leq 0,05$).

Исследования показали, что для прогнозирования и предотвращения социально-экономического ущерба, важно учитывать и зависимость от факторов производственной среды. Проведенный корреляционно-регрессионный анализ заболеваемости с ВУТ в зависимости от степени вредности комплекса факторов производства позволил получить ряд коэффициентов биологической активности.

Таблица 2

Коэффициенты биологической эффективности вибрации при воздействии на репродуктивную функцию рабочих

Показатели (относительно контроля)	Значение коэффициентов		
	мужчин	женщин	раз
Величина прироста заболеваемости с ВУТ на 1 балл степени вредности (интегральный показатель степени вредности всех факторов):			
- по болевшим лицам	1,23	5,61	4,5
- по случаям заболевания	2,70	11,69	4,3
- по дням нетрудоспособности	37,46	81,32	2,2
- по потерям дней нетрудоспособности	0,11	0,22	2,1
Биологический эквивалент женского пола, как фактора риска, в баллах степени вредности		2-5	
Величина прироста заболеваемости с ВУТ на 1дБ скорректированного уровня вибрации:			
- по дням нетрудоспособности	12,67	36,3	
Виброопасная профессия супругов повышает риск для потомства (по показателям: малая масса новорождённого, частота мертворождений, младенческая смертность до года) в раз по абсолютным величинам риска		4,0	2,8
То же в сочетании с вредными привычками (курение, употребление алкоголя), раз		8,0	

Так величина прироста заболеваемости на 1 балл степени вредности (интегральный показатель степени вредности всех факторов) по показателям болевших лиц у женщин выше, чем у мужчин в 4,5 раза, по случаям заболевания – 4,3 раза, по дням нетрудоспособности – 2,2 раза и по потерям дней нетрудоспособности в 2,1 раза. При этом биологический эквивалент женского пола как фактора риска оценивается от 2 до 5 баллов степени вредности. Установлена

величина прироста заболеваемости по дням нетрудоспособности на 1дБ корректированного уровня вибрации у мужчин на 12,17($p \leq 0,05$), у женщин 36,3($p \leq 0,05$). Эти данные говорят о большой чувствительности женщин (в 2,8 раз) к неблагоприятным условиям труда и к вибрационному воздействию. Количественный анализ изменений этих показателей в сопоставлении с уровнями вибрации свидетельствуют о том, что различия в уровнях вибрации, вызывающих одинаковые сдвиги (по показателям заболеваемости), составляют 8,4 дБ.

Проведенные ранее исследования [3, 4] по изучению влияния вибрации на сперматогенез, оогенез и эмбриогенез, а также на развитие потомства позволил рассчитать ряд коэффициентов биологической эффективности вибрации на репродуктивную функцию животных (табл. 3).

Таблица 3

Коэффициенты биологической эффективности вибрации при воздействии на репродуктивную функцию экспериментальных животных

Показатели относительно контроля	Значение коэффициентов		
	самцы	самки	Перемножение вероятностей
Цикличность половой функции (в разгах) - ритмичность (удлинение его продолжительности) - увеличение периода покоя (фаз диэструс и метаэструс) - сокращение количества циклов в месяц		1,3+2,4 2,0+3,8	
Гибель эмбрионов (выше в разгах):		2,4	
- общая	3,5	4,8	
- до имплантации	7,3	7,1	
- после имплантации	1,3	3,4	
Вероятность выживаемости эмбрионов (ниже по абсолютным величинам вероятностей):			
- общая			
- до имплантации	0,75	0,29	0,21
- после имплантации	0,32	0,21	0,07
	0,14	0,14	0,02
Вероятность рождения и выживаемости потомства (ниже по абсолютным величинам вероятности):			
	0,6	0,29	0,18
Чувствительность к вибрации (выше в разгах) При перемножении вероятностей (в разгах):			
- вероятность рождения потомства	1,7	3,5	5,5
- вероятность выживаемости потомства			14,3

Установлено, что критерием неблагоприятного воздействия общей синусоидальной вертикальной вибрации для самок является период дробления оплодотворённой яйцеклетки и васкуляризация плаценты, а для самцов – пролиферирующие сперматогонии, сперматоциты и ранние сперматиды, обуславливающие резкое увеличение антифертильного эффекта сперматозоидов.

В таблице 3 представлен ряд коэффициентов биологической эффективности вибрации ярко демонстрирующих большую чувствительность самок к её воздействию по показателям общей и после имплантационной гибели эмбрионов. Отмечена более низкая выживаемость эмбрионов, особенно по показателям общей и доимплантационной их гибели, а также вероятностей рождения и выживаемости потомства. Получены интересные данные, в подтверждение социологических исследований, по снижению вероятностей рождения и выживаемости потомства в 5,5 и 14,3 раз при аддитивности эффекта вибровоздействия на родителей.

Анализ биологических эффектов вибрации, по специфическим и интегральным показателям, позволил установить порог вредного действия вибрации, на уровне 83 дБ (по ускорению $0,01\text{м/с}^2$), на репродуктивную, нервную и эндокринную системы, что даёт возможность обоснованно судить о тех уровнях фактора, которые оградят женщин (их потомство) от неблагоприятного влияния вибрации на производстве. Материалы могут быть использованы при пересмотре ПДУ для технологических вибраций.

Таким образом, комплексное исследование условий труда и изучение влияния их на организм рабочих, позволил установить качественно-количественные соотношения вклада вибрации и сопутствующих факторов (шум, локальная вибрация, неблагоприятный микроклимат, загрязнения воздушной среды, физические и нервные нагрузки и др.) в формирование заболеваемости с ВУТ, что отражается в нарушении специфических функций мужского и женского организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Воздействие вибрации рабочих мест на репродуктивную функцию опосредуется как через женский, так и мужской организм.
2. Анализ интегрального показателя комплексной оценки факторов производственной среды выявил их достоверную связь с формированием общей заболеваемости и в отдалённых последствиях приводящих к временной утрате трудоспособности.
3. Установлен аддитивный эффект по показателям частоты самопроизвольных выкидышей, мертворождений в случаях когда оба супруга работают в условиях воздействия вибрации.
4. Виброопасная профессия супругов повышает риск для потомства по показателям массы новорождённого, частоте мертворождений, младенческой смертности до 4 раз. а при сочетании с вредными привычками (курение, употребление алкоголя) до 8 раз.
5. В эксперименте установлено, что критерием неблагоприятного воздействия общей синусоидальной вертикальной вибрации для самок является период дробления оплодотворённой яйцеклетки и васкуляризация плаценты, а для

самцов – пролиферирующие сперматогонии, сперматоциты и ранние сперматиды, обуславливающие резкое увеличение антифертильного эффекта сперматозоидов.

Список литературы

1. Суворов Г.А. Гигиеническое нормирование общей вибрации /Г.А.Суворов.- Гигиена труда и прозаболевания.-1984.-№10.- С.9-13.
2. Баличиева Д.В. Сравнительная биологическая оценка вибрационно-шумового воздействия в зависимости от дозы вибрации в эксперименте / Д.В. Баличиева, Э.И.Денисов.- Медицинский журнал Узбекистана,1979-№12, С.50-53.
3. Баличиева Д.В. К эмбриотропному действию общей вибрации /Д.В.Баличиева .-Ученые записки Крымского государственного инженерно-педагогического университета. Выпуск 5.- Симферополь:НИЦ КИПУ, 2004. - С.64-68.
4. Баличиева Д.В. Возможные механизмы формирования нарушения репродуктивной функции экспериментальных животных при вибрационном воздействии и их экстраполяция на человека /Д.В.Баличиева.-Ученые записки Крымского инженерно-педагогического университета. Выпуск 9.-Симферополь: НИЦ КИПУ, 2007.- С.17-22.
5. Баличиева Д.В. К механизму биологического действия вибрации на сперматогенез / Д.В.Баличиева. - Ученые записки Таврического национального университета им. В.И.Вернадского.Том 20[59], №4. Биология. Химия.

Балічєва Д.В. Медико-біологічні критерії несприятливої дії загальної вібрації на репродуктивну систему / Д.В. Балічєва, П.В. Шинкаревський // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 3-9.

Аналізуються віддалені наслідки впливу вібрації, шуму, умов праці, робочої пози, куріння і алкоголізму на репродуктивну систему операторів самохідних машин, вишивальниць тамбурного цеху і їх потомство.

Ключові слова: тимчасова втрата працездатності, вібрація, шум, робоча поза, куріння, алкоголізм, репродуктивна система.

Balichieva D.V. Medicobiological criteria of adverse action of unfavorable effect general vibration on the reproductive system / D.V. Balichieva, P.V. Shinkarevsky // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 3-9.

In the article are analyzed the remote consequences of influence of vibration, noise, working conditions, working pose, smoking and alcoholism on the reproductive system of operators of self-propelled cars, embroideresses of vestibule shop and their posterity.

Keywords: temporary disability, vibration, noise, working pose, smoking, alcoholism, reproductive system.

Поступила в редакцію 10.04.2013 г.

УДК 582.971.1:581.17(477.75)

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ПОБЕГОВ РОДА *LONICERA* L. В УСЛОВИЯ ИНТРОДУКЦИИ НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА (ЮБК)

Браилко В.А.

*Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, Ялта, Украина
E-mail: valentina.brailko@yandex.ru*

Выявлены особенности ритма ростовых процессов годовых побегов видов рода *Lonicera* L., интродуцированных на Южный берег Крыма. По показателям сезонной динамики роста и развития исследованных видов дана характеристика для групп прямостоячих и вьющихся жимолостей, отличающихся внутрigrупповой однотипностью указанных процессов. В каждой группе присутствуют листопадные, полувечнозеленые и вечнозеленые виды, но в связи с данной характеристикой жизненных форм достоверной разницы в ритмах ростовых процессов не обнаружено. У вьющихся видов отмечен непрерывный рост на протяжении всего периода вегетации, тогда как у прямостоячих видов рост побегов формирования прекращается в июле. Интенсивность роста побегов формирования и ветвления снижается во время нарастания гидротермического стресса. По параметру наибольшего прироста доминируют виды группы вьющихся жимолостей (*L. caprifolium* и *L. etrusca*) по сравнению с группой прямостоячих. Наиболее интенсивный рост наблюдался в мае – июне и сентябре.

Ключевые слова: побеги формирования, побеги ветвления, скорость роста, гидротермический стресс, жимолость.

ВВЕДЕНИЕ

Процессы роста и развития растительного организма находятся под контролем генома и регулируются рядом внутренних и внешних факторов. Реализация каждой генетической программы развития осуществляется при постоянно изменяющихся условиях внешней среды. Поэтому для растения определяющее значение имеет согласованность во взаимодействии внешних и внутренних факторов, участвующих в регулировании процессов роста и развития каждой клетки и целого растительного организма [1, 2]. Знание биологических особенностей роста и развития растений является необходимым условием их размножения, выращивания и рационального использования. Только прямые наблюдения за прохождением всех этапов онтогенеза позволяют дать объективную оценку приспособительных возможностей вида на онтогенетическом уровне отдельного растения и интродукционной популяции в целом [3].

Среди кустарниковых экзотов Никитского ботанического сада, перспективных для использования в озеленении, значительное место принадлежит видам рода *Lonicera* L. [4–6]. Эти декоративные кустарники выполняют роль фона для цветочных культур, живых изгородей, солитеров на газоне. Жимолость ценят за продолжительное и душистое цветение, разнообразие формы (прямостоячие и распростертые кустарники, лианы), декоративность плодов, окраску и текстуру

листьев. Виды рода *Lonicera* являются хорошими медоносами, используются в лесомелиорации, некоторые дают съедобные плоды и культивируются как плодовые и парфюмерные растения [7, 8].

В связи с этим целью нашей работы было выявление особенностей ритма роста годичных побегов видов рода *Lonicera* различного географического происхождения в условиях интродукции на Южном берегу Крыма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили разновозрастные кустарники (от 10 до 45 лет) девяти видов рода *Lonicera*, произрастающие в арборетуме Никитского ботанического сада на типичных для Южного берега Крыма коричневых почвах различной степени скелетности [9]. Географическое происхождение данных интродуцентов – в основном из Китая, Средней и Центральной Азии. Объекты представлены различными жизненными формами: листопадные прямостоячие (*Lonicera tatarica* L. и *L. maakii* (Rupr.) Maxim.), листопадные вьющиеся (*L. caprifolium* L. и *L. etrusca* Santi.), полувечнозеленые прямостоячие и вьющиеся (*L. fragrantissima* Lindl. et Paxt., *L. genryi* Hemsl.), вечнозеленые вьющиеся (*L. japonica* Thunb.) и вечнозеленые прямостоячие и стелющиеся (*L. pileata* Oliv., *L. nitida* Wils.) виды жимолости.

Наблюдения и измерение прироста побегов проводили в период с марта по октябрь 2012 года. При этом на каждом модельном кустарнике в период вегетации под наблюдением было по 10 побегов формирования и ветвления первого и второго порядков равномерно по кроне кустарников. Для высоких прямостоячих кустарников (*L. tatarica*, *L. maakii* и *L. fragrantissima*) данные измерения проводили на высоте 1,0 – 1,5 м.

Интенсивность роста побегов определяли биометрическим методом. Рост побегов измеряли подекадно с точностью до 1 мм. Полученные данные по среднему приросту побегов (см на 1 побег) графически сглаживали и составляли таблицу выровненных значений через равные интервалы (шаг таблицы). Применяя способ численного дифференцирования, вычисляли первые производные, которые дают аналитическое выражение скорости роста побега в любой интересующий момент времени. Первые производные вычисляют по формуле, которая применима во всех точках, кроме первой и последней [10]:

$$Y = \frac{1}{h} * \left[\frac{Y(n+1)}{2} - \frac{Y(n-1)}{2} \right], \quad (1)$$

где Y – шаг таблицы (в днях);

$Y(n+1)$ и $Y(n-1)$ – сглаженные значения функции.

В работе также использованы данные агрометеостанции «Никитский сад», характеризующие погодные условия в период исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Система роста побегов у большинства жимолостей относится к моноподиально-симподиальному типу, подтип – вегетативный с открытыми побегами формирования, терминальная почка всегда остается вегетативной [11, 12]. Главные скелетные оси образованы побегами формирования, развивающимися от основания кустарника. В дальнейшем, с развитием на них побегов ветвления 3 – 4 порядков, образуется система побегов формирования [7].

Наблюдения за сезонным ростом и развитием видов рода *Lonicera* позволяют характеризовать ростовые процессы в двух группах: прямостоячие и вьющиеся жимолости, которые отличаются внутригрупповой однотипностью указанных процессов. У прямостоящих жимолостей цикл роста побегов приходится на один вегетационный период, и лишь вечнозеленый вид – *L. nitida* – дал по два прироста. Лиановидные жимолости за этот период времени проходят два (а для *L. japonica* отмечено три) цикла роста побегов. Сроки начала и окончания роста побега можно определить только путем постоянных измерений модельных растений, так как внешних проявлений границ прироста на побеге нет.

Вегетационный период 2012 года для видов рода *Lonicera* был довольно продолжителен. Весенняя вегетация в условиях ЮБК началась со второй декады марта, а при накоплении суммы эффективных температур выше 20 – 50⁰С и устойчивом переходе среднесуточной температуры через +10⁰С в сторону повышения температур, в начале апреля наступила фенофаза распускания почек. Рост всех видов жимолости начинается с момента образования побега формирования из вегетативной почки, которые закладываются в год, предшествующий вегетации. Рост побегов формирования у листопадных и вечнозеленых лиан продолжался до периода листопада, то есть до прекращения физиологической активности листьев (рис. 1). Однако скорость роста варьирует в течение вегетационного периода в значительных пределах. Кривые роста побегов формирования возрастают гиперболично и отражают две стадии интенсификации ростовых процессов до достижения стабилизации.

Весенний рост вьющихся видов рода *Lonicera* нарастает до середины мая, характеризуясь скоростью 2,3 – 8,4 мм/сутки. Первый ростовой пик у листопадных видов *L. caprifolium*, *L. etrusca* и полувечнозеленой *L. genryi* отмечен в конце мая – начале июля, когда скорость роста составила 7,1 – 12,5 мм/сутки. Вечнозеленая лиана *L. japonica* характеризуется активизацией ростовых процессов раньше: в конце апреля – начале мая (скорость роста 5,6 – 10,5 мм/сутки). К этому периоду у вьющихся видов жимолости побеги формирования достигают 32 – 57% своего годового прироста. В середине июля рост вьющихся жимолостей существенно замедляется и вновь ускоряется в третьей декаде августа, достигая второго максимума среднесуточных приростов в середине сентября.

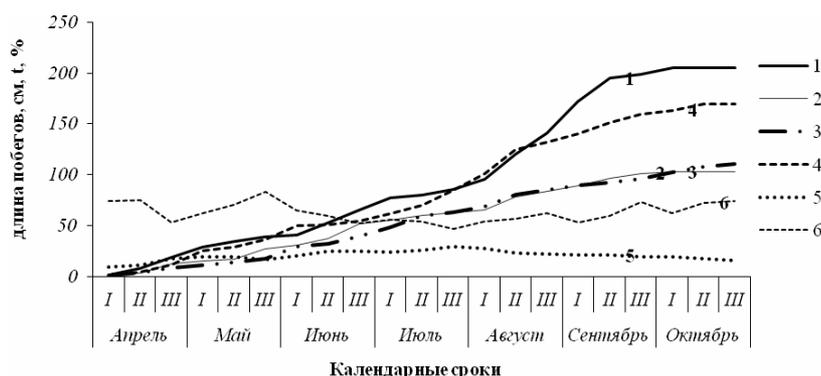


Рис. 1. Ход роста побегов формирования у вьющихся видов жимолости в 2012 году: 1 – *L. caprifolium*, 2 – *L. etrusca*, 3 – *L. genryi*, 4 – *L. japonica*, 5 – среднедекадная температура воздуха, 6 – относительная влажность воздуха

Сопоставление кривых изменения среднесуточного прироста побегов формирования с ходом изменения температуры и влажности воздуха показывает, что снижение скорости роста побегов совпадает с наступлением гидротермического стресса – во время летней атмосферной и почвенной засухи. При этом можно отметить, что летняя депрессия ростовых процессов наиболее выражена у листопадных лиан *L. caprifolium* и *L. etrusca* и вечнозеленой *L. japonica*.

Рост побегов формирования листопадных и вечнозеленых прямостоячих видов продолжается до июля. При этом кривая роста линейно возрастает с едва заметной депрессией в засушливое время вегетационного периода. Максимальная скорость роста отмечена в начале вегетации (4,0 – 6,0 мм/сутки) и второй половине мая. В период конца мая – начала июня побеги достигают у различных видов 60 – 80% своего годового прироста. Далее рост продолжается равномерно, с приблизительно одинаковой скоростью, и прекращается в июле (рис. 2). Таким образом, исследованные прямостоячие жимолости можно отнести к видам с коротким (до 120 дней) периодом роста.

После периода роста начинается стадия стабилизации – в это время происходит образование побегов ветвления первого-третьего порядков. Побеги ветвления располагаются в верхних 4 – 5 узлах побегов формирования. Только для *L. nitida* отмечено их образование по всей длине побега формирования. У *L. caprifolium*, *L. japonica* и *L. etrusca* побеги ветвления располагаются на верхней стороне побегов формирования, что связано со стелющейся формой кустарников. Можно отметить, что у видов данной группы длина побегов ветвления первого порядка в среднем в два раза выше, чем у видов группы прямостоячих жимолостей. В период стабилизации у *L. fragrantissima* верхняя часть системы побега формирования дуговидно изгибается, для этого вида и *L. nitida* в условиях ЮБК также характерно наличие всего одного порядка побегов ветвления.

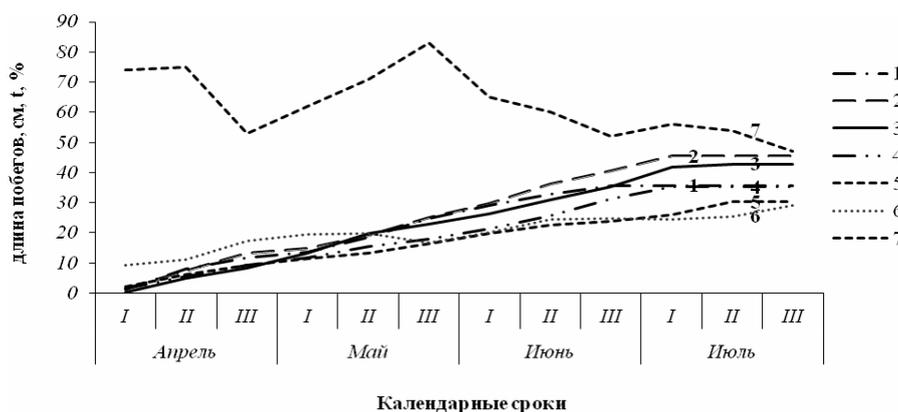


Рис. 2. Ход роста побегов формирования у прямостоячих видов жимолости в 2012 году:

1 – *L. tatarica*, 2 – *L. maakii*, 3 – *L. fragrantissima*, 4 – *L. pileata*, 5 – *L. nitida*, 6 – среднедекадная температура воздуха, 7 – относительная влажность воздуха

У кустарников с открытыми побегами, к которым относится жимолость, нет резкой разницы между вегетативными и генеративными побегами ветвления [12]. Однако установлено, что у *L. maakii* не цветущие побеги ветвления первого порядка в два раза длиннее цветущих, они достигают 55 – 60 см, имея более 6 узлов (то есть выполняют также ростовую функцию). Многие из исследованных видов жимолости характеризуется обилием крупной стеблевой поросли в верхней части осевых побегов, что значительно увеличивает срок декоративности кроны. Результаты годового прироста побегов формирования и ветвления представлены в таблице 1.

Таблица 1
Прирост побегов видов рода *Lonicera* за вегетационный сезон 2012 года

Группа	Вид	Средняя длина побега формирования, см	Средняя длина побегов ветвления, см	
			I порядка	II порядка
Прямостоячие жимолости	<i>L. maakii</i>	45,4 ± 7,2	17,5 ± 3,4	9,0 ± 2,3
	<i>L. fragrantissima</i>	42,8 ± 5,8	15,2 ± 2,1	-
	<i>L. tatarica</i>	35,7 ± 4,2	12,4 ± 3,8	8,5 ± 3,6
	<i>L. pileata</i>	35,2 ± 3,9	10,3 ± 2,2	5,1 ± 2,0
	<i>L. nitida</i>	30,2 ± 5,6	12,1 ± 3,2	-
Вьющиеся жимолости	<i>L. caprifolium</i>	205,4 ± 21,4	51,1 ± 4,6	12,0 ± 3,8
	<i>L. japonica</i>	169,9 ± 15,2	39,7 ± 4,8	12,3 ± 3,5
	<i>L. henryi</i>	110,5 ± 12,4	28,5 ± 7,1	11,0 ± 3,2
	<i>L. etrusca</i>	103,1 ± 14,7	40,3 ± 6,5	10,2 ± 4,1

У вьющихся жимолостей побег формирования может менять направление своего роста неоднократно, что зависит от наличия и отсутствия опоры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях Южного берега Крыма особенностью ритма роста годичных побегов интродуцированных видов рода *Lonicera* является четко выраженная периодичность, связанная с приостановками ростовых процессов или резким их замедлением в наиболее жаркий и сухой период года. Различные ритмы ростовых процессов характерны для групп прямостоячих и вьющихся жимолостей. В каждой группе присутствуют листопадные, полувечнозеленые и вечнозеленые виды, но в связи с данной характеристикой жизненных форм достоверной разницы в ритмах ростовых процессов не обнаружено. Для вьющихся жимолостей характерен непрерывный рост в течение всего периода вегетации и отсутствие периода биологического покоя, а прямостоячие завершают рост в конце июля, причем листопадные виды данной группы имеют период глубокого покоя в осенне-зимний период. Скорость роста побегов, измеренная за этот вегетационный период, дает основания выделить по параметру наибольшего прироста в группе прямостоячих жимолостей *L. fragrantissima* и *L. maakii*, а среди вьющихся видов - *L. caprifolium* и *L. japonica*. Наиболее интенсивный рост наблюдался в мае – июне и сентябре. Максимальный годичный прирост зафиксирован у *L. caprifolium* – 205см (побег формирования). Размеры побегов, число порядков их в системе побегов формирования и системе скелетных осей, длительность основного цикла всецело зависят от условий существования

Список литературы

1. Иванов Б.В. Клеточные основы роста растений / Б.В. Иванов. – М.: Наука, 1974. – 223с.
2. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе / В.С. Шевелуха. – М.: Колос, 1992. – 593 с.
3. Захаренко Г.С. Формирование и рост вегетативных побегов у видов *Cupressus L.* на Южном берегу Крыма / Г.С.Захаренко, В.Е.Севастьянов, А.Н.Захаренко // Декоративные растения и их рациональное использование. Сборник научных трудов, том 124. – Ялта. 2004. – С. 6 – 11.
4. Анисимова А.И. Итоги интродукции древесных и кустарниковых растений в Никитском ботаническом саду за 30 лет (1926-1955) / А. И. Анисимова. – Ялта, 1957. – С. 197 – 209.
5. Галушко Р.В. Древесные растения с красивыми плодами и листьями в декоративном садоводстве / Р.В.Галушко, В.М.Кузнецова, М.В. Ежов. – К.: Аграрна наука, 2005. – С. 18.
6. Шкарлет О.Д. Жимолостные в декоративном садоводстве Крыма / О.Д. Шкарлет, А.И. Улейская, Е.А. Васильева. – Ялта, 1999. – 33с.
7. Глухов А.З. Виды рода жимолость на Юго-востоке Украины / А.З. Глухов, Д.Р. Костырко, С.Н. Осавлюк. – Донецк, 2002. – 120с.
8. Рябова Н.В. Жимолость. Итоги интродукции в Москве / Н.В. Рябова – М.: Наука, 1980. – 160с.
9. Евтушенко А.П. Лесорастительные свойства почв нижнего парка арборетума Никитского ботанического сада / А.П. Евтушенко // Экология и садовый агроциноз. Сборник научных трудов. Том 116 – Ялта, 1996. – С. 117.
10. Румшитский Л.З. Математическая обработка результатов эксперимента. Справочное руководство / Л.З. Румшитский – М., «Наука», главная реакция физ-мат. Литературы, 1971. – 192с.

11. Зайцев Г.Н. Результаты интродукции жимолости в Ленинграде / Г.Н. Зайцев // Интродукция растений и зеленое строительство. Труды Бот. ин-та им. АН СССР. – 1962. – Сер. 6, вып. 8. – С. 184–275.
12. Мазуренко М.Т. Структура и морфогенез кустарников / М.Т. Мазуренко, А.П. Хохряков – М., «Наука», 1977. – 160 с.

Брайлко В.А. Особливості росту пагонів видів роду *Lonicera* L. в умовах інтродукції на Південному березі Криму (ПБК) / В.А.Брайлко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 10-17.

Виявлені особливості ритму ростових процесів річних пагонів видів роду *Lonicera* L., інтродукованих на Південному березі Криму. За показниками сезонної динаміки росту і розвитку вивчених видів дана характеристика групам прямостоячих та витких жимолостей, які відрізняються внутрішньогруповою однотиповістю вказаних процесів. У кожній групі є листопадні, напіввічнозелені та вічнозелені види, але у зв'язку з цією характеристикою життєвих форм достеменною різницею у ритмах ростових процесів річних пагонів не виявлено. Для витких видів відмічений безперервний ріст протягом усього періоду вегетації. Інтенсивність росту пагонів формування та галуження знижується під час наростання гідротермічного стресу. За параметром найбільшого приросту домінують види групи витких жимолостей (*L. caprifolium* і *L. etrusca*) порівняно із групою прямостоячих. Найбільш інтенсивний ріст спостерігався в травні – червні та вересні.

Ключові слова: пагони формування, пагони галуження, швидкість росту, гідротермічний стрес, жимолость.

Brailko V.A. Peculiarities of the shoots growth in some species *Lonicera* L. in the conditions of the Southern Coast of the Crimea / V.A. Brailko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 10-17.

Realization of the plants developmental genetic programme goes under the influence of the constantly changing environmental conditions. Knowledge of plants' growth biological peculiarities and development is a necessary clause for their propagation, growing and effective usage. Among exotic bushes in Nikitsky Botanical Gardens which are perspective for using in the decorative gardening species *Lonicera* L. play a significant role. They are valuable thanks to their long fragrant blossom, variety of the living forms, decorative fruits, leaves' colour and texture. Connected with these the aim of our work was to determine peculiarities of the growth rhythms for one year shoots in some species *Lonicera* L. of different geographical origin in the conditions of the introduction on the Southern Coast of the Crimea. The objects of our study were different age bushes of nine *Lonicera* species growing on the territory of Nikitsky Botanical Gardens and represented with different living forms: deciduous strait-stemmed (*Lonicera tatarica* L. and *L. maakii* (Rupr.) Maxim.), deciduous climbers (*L. caprifolium* L. и *L. etrusca* Santi.), semievergreen strait-stemmed and climbers (*L. fragrantissima* Lindl. et Paxt., *L. genryi* Hemsl.), evergreen climbers (*L. japonica* Thunb.) and evergreen strait-stemmed and spreading (*L. pileata* Oliv., *L. nitida* Wils.). Observations and measurements of the shoots growth had been made from March to October 2012. Intensity of the shoots' growth has been determined with the biometrical method. Shoot growth measurements have been made every ten days with the exactitude up to 1mm. Using the method of the numeral differentiation the first derivatives which gives analytic expression of the shoot growth intensity in each time point have been calculated.

As the results of our investigations peculiarities of the growing processes rhythms for the one year shoots in some species *Lonicera* L. introduced on the Southern Coast of the Crimea have been determined. According to the indexes of seasonal growth dynamics and progress of the studied species characteristics of the climbers and strait-stemmed species' groups with the monotypic growing processes have been given. Each of the studied groups includes deciduous, semievergreen and evergreen species, but according to the life-forms characteristics reliable distinctions for growth intensity haven't been found out. For most climbers uninterrupted shoot growth characteristic during the whole period of vegetation while the shoot growth of the strait-stemmed species finishes in June. Deciduous species from the strait-stemmed group have the autumn-winter repose period. Reliable distinctions for growth intensity of the leading shoots for deciduous, semievergreen and evergreen species inside the groups haven't been determined. Intensity of the leading

shoots and adventitious shoots growing decreases while the hydrothermal stress increases. Following the growth period the stage of stabilization starts and during this stage adventitious shoots form from the first to the third rate form. Adventitious shoots form in the upper 4-5 axils of the leading shoots. In *L. caprifolium*, *L. japonica* and *L. etrusca* adventitious shoots are situated on the upper side of the leading shoots that is associated with the spreading form of the bushes. It should be noted that in the species of this group adventitious shoots of the first rate have the average length twice higher than in the species of the strait-stemmed group. There is no great difference between vegetative and generative adventitious shoots in the bushes with the open shoots such as species *Lonicera* are. According to the growth intensity during the vegetative period species with the highest growth can be shared out – in the group of strait-stemmed species *L. fragrantissima* and *L. maakii*, and in the group of climbers *L. caprifolium* and *L. japonica*. Maximum one year growth has been noted for *L. caprifolium* – 205 sm (leading shoot). Shoots length, number of their rates in the leading shoots and main branches systems, the time of the main cycle depend from the living conditions.

Keywords: leading shoots, adventitious shoots, growth intensity, hydrothermal stress, *Lonicera*.

Поступила в редакцию 15.04.2013 г.

УДК 612.821.8

ОСОБЛИВОСТІ ФІЗИЧНОГО РОЗВИТКУ ШКОЛЯРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ ГЕМОДИНАМІКИ

Волков М.А.

*Миколаївський базовий медичний коледж, Миколаїв, Україна
E-mail: ya.volk-1982@ya.ru*

Стаття присвячена дослідженню особливостей фізичного розвитку дітей шкільного віку з різним типом центральної гемодинаміки в умовах відносного спокою та під час східчасто зростаючого безперервного фізичного навантаження з урахуванням статеві-вікових відмінностей. Комплексно вивчені особливості фізичного розвитку дітей шкільного віку залежно від функціонування системи кровообігу і встановлено, що у школярів з різними типами центральної гемодинаміки реакція серцево-судинної системи на фізичне навантаження залежить від віку та статі.

Ключові слова: діти шкільного віку, системна гемодинаміка, типи кровообігу, фізичне навантаження, фізичний розвиток, фізична працездатність.

ВСТУП

Фізичний розвиток є одним з важливих критеріїв контролю оздоровлення дітей та підлітків. Для визначення фізичного розвитку використовують морфологічні ознаки (зріст, маса тіла, окружність грудної клітини), функціональні показники (життєва ємність легень, фізична працездатність). Фізичний розвиток, характеризуючи, геометричні розміри тіла і його пропорції, безпосередньо впливає на функціонування всіх систем організму. Виражені відхилення від фізичного розвитку, як правило, означають порушення процесів росту й дозрівання організму.

Виявлення особливостей фізичного розвитку дітей з різним типом гемодинаміки у здоровій популяції зумовило появу нового погляду вчених на процеси дослідження системи кровообігу [1-12]. Рядом досліджень було встановлено, що діти з різними типами кровообігу різняться за показниками фізичного розвитку. Визначено, що типи кровообігу обумовлюють специфіку реакції організму на ортостатичне і фізичне навантаження. Втім, багато питань, щодо визначення типологічних особливостей гемодинаміки при фізичному навантаженні, потребують уточнення. Дослідники розходяться в оцінці типів кровообігу у підлітків і дорослих при терміновій адаптації серцево-судинної системи до різних навантажень, відзначаючи переваги того чи іншого типу кровообігу. Проте, у дітей під час фізичного навантаження типологічні особливості гемодинаміки залишаються ще малодослідженими.

Недостатній рівень розробленості даного питання зумовлює необхідність дослідження фізіологічних особливостей системної гемодинаміки під час фізичного навантаження у дітей шкільного віку з урахуванням статеві-вікових відмінностей.

Метою дослідження є визначення особливостей фізичного розвитку дітей шкільного віку з різним типом центральної гемодинаміки з урахуванням статеві-вікових відмінностей.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

До експериментальної групи увійшли хлопчики й дівчатка у віці від 8 до 16 років у кількості 242 чоловік. Комплекс методів дослідження включав: методи дослідження фізичного розвитку - антропометрія, масо-ростовий індекс, індекс Вервека, спірометрія; метод визначення фізичної працездатності - велоергометричний тест PWC170; методи дослідження діяльності серця - метод диференціальної тетраполярної реографії, непрямий метод Короткова з використанням мембранного сфігмоманометра; метод проведення фізичного навантаження - динамічне східчасто зростаюче безперервне велоергометричне фізичне навантаження; методи визначення типів кровообігу й статистичної обробки даних – методи математичної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з результатами наших досліджень у кожній із статеві-вікових груп обстежених школярів 8-16 років відмічені гіпокінетичний та еукінетичний типи кровообігу. Проте не у всіх статеві-вікових групах (хлопчики 9 років та дівчатка 8, 10 років) нами були виявлені особи з гіперкінетичним типом гемодинаміки (табл. 1). Від 8 до 16 років співвідношення осіб з різними типами кровообігу в середині статеві-вікових груп змінюється без чіткої закономірності.

Таблиця 1

Розподіл осіб з різними типами кровообігу у групі школярів 8-16 років залежно від статі й віку (%)*

Вік, років	ГрТК	ЕТК	ГТК	ГрТК	ЕТК	ГТК
	Хлопчики			Дівчатка		
8	7,69	15,38	76,92	0,00	50,00	50,00
9	0,00	66,67	33,33	23,08	53,85	23,08
10	10,00	40,00	50,00	0,00	53,85	46,15
11	11,76	47,06	41,18	25,00	58,33	16,67
12	35,71	57,14	7,14	25,00	25,00	50,00
13	30,00	30,00	40,00	7,69	69,23	23,08
14	37,50	43,75	18,75	15,38	61,54	23,08
15	15,38	46,15	38,46	6,67	53,33	40,00
16	14,29	64,29	21,43	33,33	33,33	33,33

Примітка: *ГрТК - гіперкінетичний тип кровообігу; ГТК - гіпокінетичний тип кровообігу; ЕТК - еукінетичний тип кровообігу.

У стані спокою встановлені відмінності між типами кровообігу за всіма обраними показниками фізичного розвитку: m, H, ОГК, St ЖСЛ, масо-ростовий індекс (МРІ), індексу Вервека (ІВ), худій масі (ХМ), кількості ліпідів (КЛ). При

цьому достовірний характер відмінностей між різними типами гемодинаміки у хлопчиків спостерігається у 9, 11, 15, 16 років, а у дівчаток - у 12, 14, 16 років.

Дітям з гіперкінетичним типом гемодинаміки притаманні менші значення, порівнянні з гіпокінетичним типом, т, Ст, ХМ, Н, ОГК, ЖСЛ. Разом з тим, ГТК характеризується відносною брахіморфністю, тому що має знижені значення ІВ.

Відомо, що у дітей брахіморфність є передумовою появи надлишкової маси [3]. У наших дослідженнях саме школярі із ГТК мали підвищений вміст ліпідів та високий МРІ, що свідчить про наявність надлишкової маси тіла. Відомо, що надлишкова маса у дітей впливає на загальні енергетичні витрати та показники центральної гемодинаміки [8]. Даний факт, можливо, свідчить про низький рівень енергетичних резервів [7] і на порушення нейроендокринної регуляції функцій [5] в осіб із ГТК.

Відмінності у фізичній працездатності спостерігається також у осіб з різними типами гемодинаміки (табл. 2). Як видно із даних представлених таблиці, у хлопчиків до 10 років відмінності у рівні фізичної працездатності для різних типів системної гемодинаміки не мають прояву, а у дівчаток - до 12 років. Після зазначених вікових періодів і до 16 років у осіб обох статей спостерігаються більш високі значення фізичної працездатності школярів із ГТК (рис. 1 та 2).

Таблиця 2

Рівень фізичної працездатності у школярів залежно від типу гемодинаміки

Вік, років	Стать	ГрТК	ЕТК	ГТК
		PWC170, кгМ/хв		
8	Х	-	36,69 ± 3,13	43,07 ± 3,70
	Д	49,68 ± 0,00	54,64 ± 0,24	55,22 ± 1,89
9	Х	56,22 ± 0,00	44,22 ± 3,19	46,09 ± 4,45
	Д	-	53,34 ± 4,29	58,32 ± 4,05
10	Х	-	62,21 ± 4,49	55,14 ± 5,46
	Д	63,01 ± 0,00	61,29 ± 8,39	75,07 ± 5,85
11	Х	54,46 ± 10,27	56,23 ± 4,99	59,63 ± 6,37
	Д	49,98 ± 10,27*	78,04 ± 6,45	90,77 ± 6,37***
12	Х	52,55 ± 1,08	83,10 ± 3,29	74,49 ± 4,85***
	Д	101,76 ± 13,08	87,96 ± 3,29**	108,39 ± 5,10
13	Х	98,21 ± 0,00	85,72 ± 5,26	91,13 ± 6,75
	Д	100,42 ± 6,51	85,46 ± 17,03	129,51 ± 19,11
14	Х	78,66 ± 8,65	80,33 ± 5,85**	107,21 ± 16,78***
	Д	92,63 ± 10,96	112,54 ± 8,54	131,25 ± 16,78***
15	Х	44,89 ± 0,00	79,44 ± 11,31	92,71 ± 8,71
	Д	86,54 ± 0,59	113,12 ± 11,31**	142,58 ± 8,71***
16	Х	95,56 ± 4,85	84,46 ± 8,94**	125,42 ± 9,33
	Д	102,61 ± 4,85*	152,77 ± 12,44	164,68 ± 21,49

Примітка: Х - хлопчики; Д - дівчатка; * - рівень достовірності відмінностей між ГрТК і ЕТК менш 0,05; ** - рівень достовірності відмінностей між ГТК і ЕТК менше 0,05; *** - рівень достовірності відмінностей між ГрТК і ГТК менше 0,05

У періоди інтенсивного росту, які розглянуті вище, відзначається збільшення у статеві-вікових групах кількості дітей із ГТК, що характеризується найбільшими значеннями антропометричних показників, або зменшення кількості дітей із ГрТК. Отже, темпи фізичного розвитку та інтенсивність процесів росту залежать від відсоткового співвідношення дітей з різними типами кровообігу в межах статеві-вікових груп.

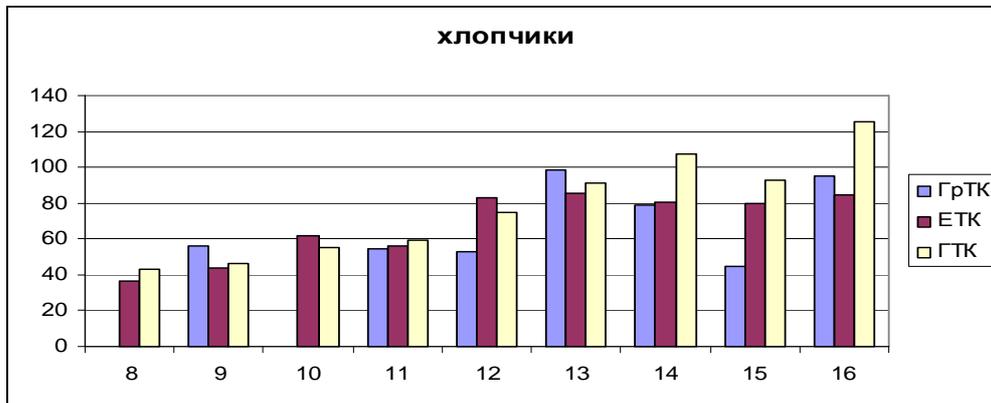


Рис. 1. Фізична працездатність у школярів (хлопчиків) з різними типами кровообігу PWC170, кГм/хв

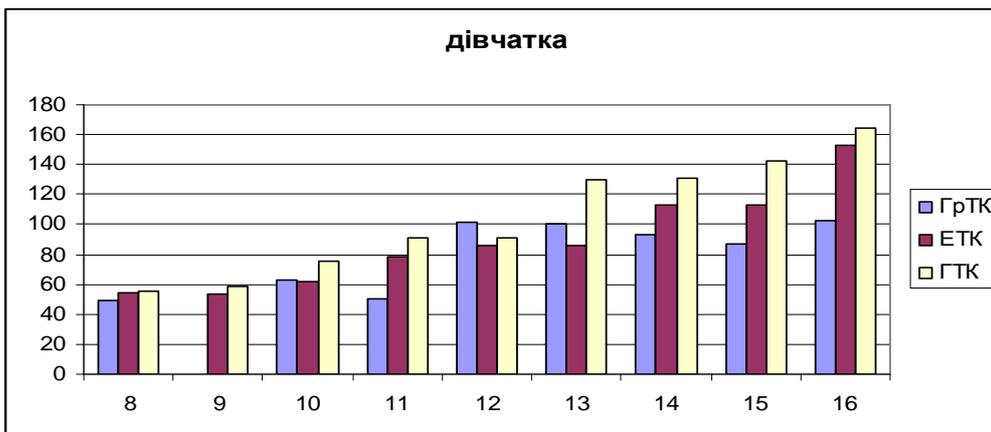


Рис. 2. Фізична працездатність у школярів (дівчаток) з різними типами кровообігу PWC170, кГм/хв

Таким чином, школярі 8-16 років із ГТК, на відміну школярів з ГрТК, мають більші значення не лише маси і довжини тіла, худой маси, окружності грудної клітини, життєвої ємності легень, площі поверхні тіла, фізичної працездатності, але і високий вміст ліпідів в організмі, надмірність маси і відносну брахіморфність.

ВИСНОВОК

Фізична працездатність виступає як критерій адаптаційних можливостей організму, оскільки відбиває функціональні можливості організму в умовах активної діяльності, що потребує мобілізації резервів організму. В результаті дослідження доведено зростання фізичної працездатності у дітей протягом шкільного періоду. При цьому підтверджена її залежність від статі і фізичного розвитку. Найбільші значення приросту фізичної працездатності зафіксовані в 10 і 16 років, що відповідає періодам найбільш інтенсивного росту, а також в 12 років.

Список литературы

1. Абзалов Р.А. Механизмы регуляции функций сердца развивающегося организма в условиях различных двигательных режимов / Абзалов Р.А. // Растущий организм. Адаптация к физической и умственной нагрузке: Тезисы всероссийской науч. конференции / Казань: КГПИ, 1994. -С.3-5.
2. Алишин И.И. Нормальные показатели спирометрии у лиц молодого возраста / Алишин И.И. // Кардиология. -1989. -Том. 29. -№ 5. -С.52-56.
3. Беренштейн Г.Ф. Состояние системы кровообращения учащихся старших классов общеобразовательной школы в процессе учебной деятельности / Беренштейн Г.Ф., Нурбаева М.Н., Караваев А.Г., Жилинская А.А., Полевой Д.А., Василенко Н.И.// Гигиена и санитария. -1988. -№ 9. -С. 80.
4. Вульфсон И.Н. Возрастные особенности некоторых показателей гемодинамики здоровых детей / Вульфсон И.Н.// Вопросы охраны материнства и детства.-1967. -№ 8.-С.9.
5. Вульфсон И.Н. Тетраполярная реография в исследовании ударного объема сердца у детей / Вульфсон И.Н.// Педиатрия. -1977. -Том. 4. -С.57.
6. Еремеев В.Я. Адаптивные реакции сердечно-сосудистой системы старших школьников на дозированную физическую нагрузку / Еремеев В.Я., Горбунов Н.П., Калашникова Л.Д. // Адаптивные реакции организма старших школьников к физическим и умственным нагрузкам: Межвузовский сб. науч. Тр. / -Пермь: ПГПИ, 1990.
7. Иванова Н.В. Характеристика гемодинамических типов кровообращения у здоровых детей / Иванова Н.В. // Вопросы охраны здоровья материнства и детства. -1988. -№ 3. -С.3-5.
8. Карвэ М.Д. Значение гомеостатической функции почек в формировании типов гемодинамики у детей в препубертатном периоде / Карвэ М.Д., Катыхева О.В., Виноградова И.В., Киселева Н.С., Колпакова Г.В., Волкова Н.Г. // Физиология человека. -1989. -Том.15. -№ 6.-С.93.
9. Матвеев А.П. Особенности кислородного обеспечения у мальчиков и девочек 7-16 лет при максимальной физической нагрузке / Матвеев А.П., Минаева А.Ф. // Возрастные особенности физиологических систем детей и подростков: Тезисы IV Всесоюзной конференции / -М.: АПН СССР, 1990. -С.186-187.
10. Осколкова М.К. Возрастная динамика основных функциональных показателей системы кровообращения у здоровых детей / Осколкова М.К., Вульфсон И.Н. // Физиология человека. - 1978. - Том4. - № 4. -С.723-733.
11. Хрущев С.В. Взаимосвязь биологического возраста с морфофункциональными особенностями детей и подростков / Хрущев С.В., Бахрах И.И., Дорохов Р.Н. // Педиатрия. -1980. -№ 12. -С.3-5.
12. Шапошников Е.А. Об индивидуальной и групповой оценке физического развития детей и подростков / Шапошников Е.А. // Педиатрия. -1974. -№ 12. -С.55-59.

Волков М.А. Особенности физического развития школьников с различными типами гемодинамики / М.А. Волков // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С.18-24.

Статья посвящена исследованию особенностей физического развития детей школьного возраста с разным типом центральной гемодинамики в условиях относительного покоя и при ступенчато возрастающего непрерывного физической нагрузки с учетом половозрастных различий. Комплексно изучены особенности физического развития детей школьного возраста в зависимости от функционирования системы кровообращения и установлено, что у школьников с различными типами центральной гемодинамики реакция сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку зависит от возраста и пола.

Ключевые слова: дети школьного возраста, системный гемодинамика, типы кровообращения, физическая нагрузка, физическое развитие, физическая работоспособность.

Volkov M.A. Features of the physical development of pupils with different types of hemodynamic / M.A. Volkov // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 18-24.

The article investigates the physical characteristics of school-age children with different types of central hemodynamics in conditions of relative rest and during stepwise increasing continuous exercise based on gender and age differences. Comprehensively studied the physical characteristics of school-age children, depending on the functioning of the circulatory system and found that students with different types of central hemodynamic response of the cardiovascular system to exercise depends on age and gender.

Keywords: children of school age, systemic hemodynamics, blood types, physical activity, physical development, physical performance.

FEATURES OF THE PHYSICAL DEVELOPMENT OF PUPILS WITH DIFFERENT TYPES OF HEMODYNAMIC

*Volkov Michael A.
Mykolayiv basic medical college*

The article investigates the physical characteristics of school-age children with different types of central hemodynamics in conditions of relative rest and during stepwise increasing continuous exercise based on gender and age differences. Comprehensively studied the physical characteristics of school-age children, depending on the functioning of the circulatory system and found that students with different types of central hemodynamic response of the cardiovascular system to exercise depends on age and gender.

Physical development is one of the important criteria of healthy children and adolescents. To determine the physical development using morphological characteristics (height, weight, chest circumference), functional parameters (vital capacity, physical performance). Physical development, describing, geometric dimensions of the body and its proportions, directly affect the functioning of all body systems. Pronounced deviations from physical development usually means the disturbance of growth and maturation of the body.

The aim of the study is to determine the physical characteristics of school-age children with different types of central hemodynamics based on gender and age differences.

According to our research in each sex and age group surveyed students 8-16 years of marked hypokinetic types of circulation and eukinetic. However, not all sex and age groups (boys and girls 9 years 8 10 years) we have found people with hyperkinetic type of

hemodynamics. From 8 to 16 ratio of people with different types of blood in the middle of sex and age groups varies without a clear pattern.

Children with hyperkinetic type of hemodynamics inherent lower values, compared with hypokinetic type.

Differences in physical performance is also observed in patients with different types of hemodynamics. In the boys under 10 years differences in physical performance for different types of systemic hemodynamics without display, and girls - to 12. After these age periods and up to 16 years in both sexes have higher values of physical performance of students with hypokinetic type of circulation.

Physical performance serves as a criterion of adaptation of the organism as reflecting the functionality of the body in activity that requires the mobilization of body reserves. The study demonstrated increase physical performance in children during the school period. This is confirmed by its dependence on sex and physical development. The highest values increase physical performance recorded at 10 and 16 years, which corresponds to the period of most intensive growth, as well as in 12 years.

Keywords: children of school age, systemic hemodynamics, blood types, physical activity, physical development, physical performance.

References

1. Abzalov RA Mechanisms of regulation of the functions of the heart of the developing organism in various motor modes // The growing organism. Adapting to fizeskoy and mental stress: the All-Russian Scientific Abstracts. Conference / Kazan State Pedagogical Institute, 1994. -C.3-5.
2. Alishin II Normal parameters spiroergometry in young adults // Cardiology. -1989. Tom. 29. - № 5. - P.52-56.
3. Berenshtejn GF, Nurbayeva MN, Karavaev AG, Zhilinskaya AA, Field D., N. Vasilenko The state of the circulatory system of high school students in the secondary school curriculum activity // Hygiene and sanitation. -1988. - № 9. -C. 80.
4. Wolfson IN Age features some hemodynamic healthy children // Questions of maternity and detstva.-1967. - № 8.-C.9.
5. Wolfson IN Tetrapolar rheography in the study of the stroke volume of the heart in children // Pediatrics. -1977. Tom. 4. -P.57.
6. Yeremeev VJ, Gorbunov NP, Kalashnikov LD Adaptive responses of the cardiovascular system of high school students to dosed physical load // Adaptive reactions high school students to the physical and mental stress: Intercollegiate Sat Scientific. Tr. /-Perm: PSPI, 1990.
7. Ivanova NV Characteristic hemodynamic types of blood flow in healthy children // The health of mothers and children. -1988. - № 3. -C.3-5.
8. Karve MD, Katysheva Olga Vinogradova, I., N. Kiselev, G. Kolpakov, Volkova N. The value of homeostatic function of the kidneys in the formation of types of hemodynamics in prepubertal children // Human Physiology. -1989. -Tom.15. - № 6.-P.93.
9. Matveev, AP, AF Minayeva Features oxygen supply in boys and girls 7-16 years old with maximum exertion // Age characteristics of the physiological systems of children and adolescents: Abstracts IV All-Union Conference /-M.: Academy of Pedagogical Sciences, 1990. -P.186-187.
10. Oskolkova MK, Wolfson IN Age dynamics of the main functional parameters of the circulatory system in healthy children // Human Physiology. -1978. - Tom4. - № 4. , S.723-733.
11. S. Khrushchev, Bachrach II, Dorohov RN The relationship of biological age with morphological and functional characteristics of children and adolescents // Pediatrics. -1980. - № 12. -C.3-5.
12. Shaposhnikov, EA On an individual and group assessment of the physical development of children and adolescents // Pediatrics. -1974. - № 12. -P.55-59.

Поступила в редакцию 25.05.2013 г.

УДК 591.571:612.176+159.943.75

ИЗМЕНЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЖИВОТНЫХ С РАЗНЫМ ПРОФИЛЕМ МОТОРНОЙ АСИММЕТРИИ В УСЛОВИЯХ НОРМЫ И ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Горная О.И.

*Мелитопольский государственный педагогический университет имени Богдана
Хмельницкого, Мелитополь, Украина
E-mail: gornaya-o@ukr.net*

Изучены изменения двигательной активности животных с разным профилем моторной асимметрии под действием гипокинетического стресса. Показано, что развитие гипокинетического стресса у крыс в следствии ограничения их подвижности приводит к развитию различных эмоциональных реакций у животных с разным профилем моторной асимметрии: у «амбидекстров» и «правшей» - эмоциональной реакции тревожности; у «левой» - страха.

Ключевые слова: двигательная активность, поведенческие реакции, моторная асимметрия, гипокинетический стресс.

ВВЕДЕНИЕ

Данные многочисленных исследований свидетельствуют о том, что реакция человека и животных на действие различных факторов может быть неодинакова. Хорошо известно, что всегда можно обнаружить особой устойчивых и сенситивных к действию различных факторов. При этом усредненные данные либо демонстрируют отсутствие достоверного эффекта, либо позволяют выявить лишь основные тенденции, но нивелируют индивидуальные различия. Различие животных по чувствительности к стрессорным раздражителям послужило основанием их деления на стрессустойчивых и стресснеустойчивых [1]. Следовательно, поиск физиологических критериев чувствительности к действию стресс-факторов является актуальной проблемой физиологии.

Индивидуально-типологические характеристики нервной системы, являющейся одной из самых чувствительных систем к воздействию факторов различной природы и интенсивности, в том числе, и к экстремальным, находят свое отражение в межполушарной асимметрии (МПА) головного мозга, а, следовательно, и в индивидуальном профиле функциональной асимметрии (ИПФА) человека и животных [2-7].

Изменение поведения на первых этапах адаптации к действию различных экстремальных факторов является даже более интегральным показателем характера ответа на воздействие, чем биохимические и физиологические сдвиги. Однако изменение поведенческих реакций под влиянием стресс-фактора у животных с

разным ИПФА не изучено. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось исследование изменений поведенческих реакций животных с разным профилем моторной асимметрии в условиях действия стресс-фактора.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы проведена на взрослых белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 грамм ($n = 84$).

Животные предварительно отбирались по критерию моторной латерализации. Выбор самцов в качестве объекта исследования обусловлен тем, что у грызунов МПА в большей степени выражена у самцов, чем у самок [8].

Адекватными методами для исследования моторной асимметрии у животных, которая отражает асимметрию ЦНС, т.е. доминирование правого или левого полушария головного мозга являются тесты «открытого поля» (ОП) и Т-образного лабиринта [8].

После помещения в центр площадки ОП или в Т-образный лабиринт у каждой особи подсчитывали число побегов в правую или левую сторону. После усреднения данных 10-ти повторных опытов вычисляли коэффициент моторной асимметрии (Кас) – показатель предпочтения направления движения, который представляет собой отношение разности правосторонних (П) и левосторонних (Л) побегов к их сумме, выраженный в процентах: $Кас = (П - Л) / (П + Л) \times 100\%$ [8].

Анализ величины коэффициента асимметрии в тестах ОП и Т-образного лабиринта позволил разделить животных на 3 группы: «правши» (66 %; $Кас > 20$), «левши» (24 %; $Кас < -20$) и «амбидекстры» (10 %; $-20 < Кас < 20$).

Эксперименты проводили через 2-3 недели после формирования однородных групп животных.

Животные с разным профилем моторной асимметрии были распределены на 2 равноценные группы по 12-15 особей в каждой. Животные первой группы содержались в обычных условиях вивария (контроль, К). Вторую группу составляли крысы, подвергавшиеся действию стресс-фактора. Стресс-реакция моделировалась 9-тисуточным ограничением подвижности (гипокинезия, ГК) [9].

Для создания условий экспериментального ограничения подвижности использовались специальные пеналы из оргстекла, состоящие из 5 ячеек. Размеры каждой ячейки составляли $140 \times 60 \times 60$ мм для каждой крысы. Такие клетки обеспечивают существенное ограничение подвижности животных по всем направлениям. В описанных пеналах крысы экспериментальных групп (ГК) находились в течение 9-ти суток по 20 часов в сутки. В течение 4-х остальных часов осуществляли кормление и уход за животными, экспериментальные исследования. Полученная экспериментальная модель позволила создать одинаковую степень «жесткости» ГК для всех животных, что является необходимым условием для получения сопоставимых результатов.

Для исследования изменений поведенческих реакций животных всех групп подвергали тестированию в тесте ОП ежедневно в затемненном звукоизолированном помещении в одно и то же время суток (с 9⁰⁰ до 11⁰⁰ часов) до кормления.

В нашем исследовании ОП представляло собой площадку размером 80 x 90 см, расчерченную на 20 квадратов, ограниченную барьером высотой 40 см. Во время опыта поле равномерно освещалось лампой 200 Вт, расположенной на высоте 1 м от центра. Крысу помещали на середину площадки и в течение 2-х минут регистрировали следующие показатели: горизонтальную двигательную активность (ГДА; число пересеченных квадратов), вертикальную двигательную активность (ВерДА; число подъемов на задние лапы), частоту реакций дефекаций (число фекальных боллюсов) [10].

Статистическая обработка материала проводилась путем вычисления среднего значения исследуемых величин (\bar{x}), среднего квадратического отклонения (σ), ошибки среднего арифметического ($S\bar{x}$). После проверки полученных данных на закон нормального распределения, оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Различия между значениями показателей у животных разных экспериментальных групп считались достоверными при $p < 0,05$. Силу и направленность связи между изучаемыми показателями оценивали с помощью корреляционного анализа, вычисляя коэффициент корреляции (r).

Эксперименты проводились с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и Постановления первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты данного исследования, поведение животных с разным профилем моторной асимметрии имело различный характер. Известно, что в условиях новой обстановки ОП экспериментальные животные ведут себя по-разному: для одних характерна активная исследовательская реакция, а для других – проявление устойчивой врожденной реакции страха, тревоги в виде ненаправленного движения или пассивно-оборонительного поведения. Совершенно очевидно, что различный характер поведения животных в одних и тех же условиях определяется их индивидуальными особенностями [11-12], что и было выявлено в настоящем исследовании.

У интактных крыс – «амбидекстров» при первом тестировании в ОП обнаружили минимальную как ГДА ($9,60 \pm 0,30$), так и ВерДА ($2,06 \pm 0,60$) (табл. 1, 2). Ориентировочно-исследовательская реакция осуществлялась лишь в первые секунды тестирования. При повторных тестированиях в ОП отмечено волнообразное снижение горизонтального и вертикального компонентов двигательной активности. Причем, уже на 2-е сутки эксперимента ГДА и ВерДА составили около 50% относительно исходного уровня. В остальные сроки наблюдения зарегистрировано незначительное возрастание двигательной активности с последующим ее снижением.

Поведение крыс – «правшей» при первом тестировании в ОП отличалось от поведения крыс – «амбидекстров»: для них характерны более высокие исходные показатели ГДА ($27,00 \pm 1,02$) и ВерДА ($5,25 \pm 0,56$) (табл. 1, 2). При повторных

тестированиях в ОП также отмечено снижение как горизонтального, так и вертикального компонентов локомоторной активности, однако этот процесс в отличие от животных-«амбидекстров» протекал быстрее.

Таблица 1
Изменение горизонтальной двигательной активности в тесте «открытого поля» у крыс различных индивидуально-типологических групп под влиянием гипокинезии ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Сутки	Группы животных					
	«амбидекстры»		«правши»		«левши»	
	К (n = 12)	ГК (n = 12)	К (n = 15)	ГК (n = 15)	К (n = 15)	ГК (n = 15)
№	1	2	3	4	5	6
1	9,60±0,30 p _{1,3} ≤0,001	10,66±0,40 p _{2,4} ≤0,001	27,00±1,02 p _{3,5} ≤0,001	27,80±2,00 p _{4,6} ≤0,001	47,80±4,06 p _{1,5} ≤0,001	46,53±1,38 p _{2,6} ≤0,001
2	5,00±0,20	7,66±0,80 p _{1,2} ≤0,02 p _{2,4} ≤0,02	7,00±1,40 p _{3,5} ≤0,001	12,00±1,00 p _{3,4} ≤0,01	28,00±1,68 p _{1,5} ≤0,001	16,40±2,64 p _{5,6} ≤0,01 p _{2,6} ≤0,01
3	4,67±0,10	23,35±0,60 p _{1,2} ≤0,001	6,00±2,30	17,80±3,20 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	9,00±1,32 p _{1,5} ≤0,02	3,90±0,80 p _{5,6} ≤0,01 p _{2,6} ≤0,001
4	6,50±0,30	41,10±2,80 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,001	7,00±1,12	27,23±2,4 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	5,80±0,20	4,79±1,02 p _{2,6} ≤0,001
5	8,50±0,20	33,49±2,30 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,001	12,50±2,40	52,90±4,30 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	12,60±2,0	5,73±1,30 p _{5,6} ≤0,01 p _{2,6} ≤0,001
6	4,00±0,20 p _{1,3} ≤0,05	17,29±2,10 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,02	6,50±1,05 p _{3,5} ≤0,01	26,00±1,80 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	12,80±1,56 p _{1,5} ≤0,001	5,20±0,94 p _{5,6} ≤0,001 p _{2,6} ≤0,001
7	6,00±1,15	32,14±2,50 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,001	8,05±0,97	17,50±1,06 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	10,50±1,40 p _{1,5} ≤0,02	5,60±1,20 p _{5,6} ≤0,02 p _{2,6} ≤0,001
8	3,50±0,20 p _{1,3} ≤0,001	18,88±1,50 p _{1,2} ≤0,001	8,50±0,75 p _{3,5} ≤0,02	20,70±1,64 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	13,33±1,70 p _{1,5} ≤0,001	7,45±1,70 p _{5,6} ≤0,02 p _{2,6} ≤0,001
9	3,33±0,20 p _{1,3} ≤0,05	21,41±1,30 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,05	5,40±0,64 p _{3,5} ≤0,001	17,40±1,07 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	12,75±1,56 p _{1,5} ≤0,001	8,58±0,40 p _{5,6} ≤0,05 p _{2,6} ≤0,001

Примечание: p₁₋₆ – различия достоверны между группами, обозначенными в таблице 1 – 6 соответственно, по критерию Стьюдента.

К – контроль; ГК – гипокинезия.

Таблица 2

Изменение вертикальной двигательной активности в тесте «открытого поля» у крыс различных индивидуально-типологических групп под влиянием гипокинезии ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Сутки №	Группы животных					
	«амбидекстры»		«правши»		«левши»	
	К (n = 12)	ГК (n = 12)	К (n = 15)	ГК (n = 15)	К (n = 15)	ГК (n = 15)
1	2	3	4	5	6	
1	2,06±0,6 p _{1,3} ≤0,001	1,82±0,30 p _{2,4} ≤0,001	5,25±0,56 p _{3,5} ≤0,05	5,20±0,44 p _{4,6} ≤0,001	10,20±2,30 p _{1,5} ≤0,01	10,80±0,67 p _{2,6} ≤0,001
2	1,50±0,08	0,47±0,20 p _{1,2} ≤0,01	1,90±0,64 p _{3,5} ≤0,001	0,86±0,36 p _{4,6} ≤0,001	8,40±0,70 p _{1,5} ≤0,001	6,80±0,80 p _{2,6} ≤0,001
3	1,00±0,21	3,50±1,00 p _{1,2} ≤0,05	1,80±0,36 p _{3,5} ≤0,001	4,05±0,65 p _{3,4} ≤0,01 p _{4,6} ≤0,01	3,60±0,16 p _{1,5} ≤0,001	1,80±0,22 p _{5,6} ≤0,001
4	1,00±0,12	5,00±0,80 p _{1,2} ≤0,01 p _{2,4} ≤0,05	1,50±0,32 p _{3,5} ≤0,02	3,00±0,16 p _{3,4} ≤0,01 p _{4,6} ≤0,001	2,60±0,24 p _{1,5} ≤0,001	1,53±0,07 p _{5,6} ≤0,01 p _{2,6} ≤0,001
5	0,75±0,15 p _{1,3} ≤0,001	1,88±0,08 p _{1,2} ≤0,05 p _{2,4} ≤0,001	3,00±0,35	6,56±0,24 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	2,40±0,18 p _{1,5} ≤0,001	0,79±0,05 p _{5,6} ≤0,001 p _{2,6} ≤0,001
6	0,10±0,01 p _{1,3} ≤0,001	3,25±0,20 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,001	2,00±0,21 p _{3,5} ≤0,001	6,50±0,31 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	4,60±0,42 p _{1,5} ≤0,001	4,30±0,30 p _{2,6} ≤0,05
7	0,66±0,10 p _{1,3} ≤0,001	2,64±0,10 p _{1,2} ≤0,001 p _{2,4} ≤0,001	2,40±0,31 p _{3,5} ≤0,001	4,80±0,20 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	4,20±0,12 p _{1,5} ≤0,001	2,06±0,34 p _{5,6} ≤0,001
8	0,25±0,11 p _{1,3} ≤0,001	0,75±0,12 p _{1,2} ≤0,02 p _{2,4} ≤0,001	1,40±0,20 p _{3,5} ≤0,001	8,40±0,18 p _{3,4} ≤0,001 p _{4,6} ≤0,001	5,75±0,22 p _{1,5} ≤0,001	2,06±0,15 p _{5,6} ≤0,001 p _{2,6} ≤0,001
9	0,25±0,10 p _{1,3} ≤0,001	1,35±0,20 p _{1,2} ≤0,01 p _{2,4} ≤0,001	1,00±0,08 p _{3,5} ≤0,001	2,50±0,12 p _{3,4} ≤0,001	4,40±0,16 p _{1,5} ≤0,001	2,60±0,20 p _{5,6} ≤0,01 p _{2,6} ≤0,001

Примечание: p₁₋₆ – различия достоверны между группами, обозначенными в таблице 1 – 6 соответственно, по критерию Стьюдента.
К – контроль; ГК – гипокинезия.

Интактные животные – «левши» показали более высокие значения как ГДА (47,80±4,06), так и ВерДА (10,20±2,30) по сравнению с животными других типологических групп (табл. 1, 2). Для них были характерны выраженная подвижность, длительные горизонтальные пробежки, частые вертикальные стойки, целенаправленные исследовательские реакции. При повторных тестированиях животных этой группы в ОП также отмечено снижение как горизонтального, так и вертикального компонентов двигательной активности, однако, в отличие от животных «правшей» и «амбидекстров», этот процесс протекал более плавно. Уровень двигательной активности у животных с левосторонним моторным фенотипом на протяжении 9-ти дней тестирования оставался достоверно выше соответствующих значений у животных других типологических групп.

Следовательно, многократное тестирование интактных крыс с разным профилем моторной асимметрии приводит к снижению ориентировочно-исследовательской активности.

Количество реакций дефекации у животных с разным профилем моторной асимметрии практически не отличалось в течение всего эксперимента. Этот показатель не носил достоверного характера и при сравнении между группами.

Таким образом, крысы, имеющие разный профиль моторной асимметрии, отличались индивидуально-типологическими особенностями поведения в тесте ОП. Действительно, крысы, не имеющие выраженной моторной асимметрии («амбидекстры»), отличались от животных других типологических групп низкой двигательной активностью (НДА). У крыс, имеющих правостороннюю моторную асимметрию («правши»), зарегистрирована средняя двигательная активность (СДА), у животных, характеризующихся левосторонней моторной асимметрией («левши»), выявлен высокий уровень двигательной активности (ВДА) в ОП. Подтверждением этого является достоверная отрицательная корреляционная связь ($r = -0,68$; $p < 0,05$) между коэффициентом моторной асимметрии животных ($K_{ас}$) и уровнем их двигательной активности в ОП.

Установлено, что двигательная активность крыс в тесте ОП коррелирует с силой возбуждательного процесса [12, 13]. Поэтому можно заключить, что животные - «амбидекстры» с НДА характеризуются пассивно-оборонительной формой поведения, что, согласно Н.М. Хоничевой с соавт. (1984), свидетельствует о слабом тормозном типе нервной системы, животные с левосторонней моторной асимметрией и ВДА характеризуются активно-оборонительным характером поведения, что позволяет отнести их к сильному неуравновешенному типу нервной системы, а животных - «правшей» со СДА можно отнести к сильному уравновешенному типу нервной системы [14].

Таким образом, различие в моторной асимметрии крыс выделенных групп может быть связано с силой нервных процессов в ЦНС. Вместе с тем, моторная асимметрия характерна для животных разных поведенческих групп, что свидетельствует о значении особенностей взаимодействия больших полушарий в организации индивидуального поведения.

Экспериментальное воздействие ГК вызвало выраженные изменения изученных показателей поведенческих реакций животных с разным ИПФА.

При ограничении подвижности животных – «правшей» произошло увеличение локомоторной активности относительно значений этих показателей у интактных крыс в течение всего эксперимента. Максимальное значение ГДА зарегистрировано на 4-е сутки эксперимента, когда превысило значение этого показателя у контрольных крыс в 4,2 раза ($p < 0,05$) (табл. 1). В конце эксперимента значение ГДА превысило данные, зафиксированные у интактных крыс в 2,5 – 3 раза ($p < 0,001$). ВерДА максимально возросла на 8-е сутки ограничения подвижности и превысила уровень контрольных значений в 6 раз ($p < 0,001$) (табл. 2). Частота актов дефекации также продолжала увеличиваться в 3,5–4,5 раза ($p < 0,001$) относительно значений соответствующего показателя у животных контрольной группы.

У животных – «амбидекстров», подвергнутых ограничению подвижности, двигательная активность в ОП возрастала в еще большей степени по сравнению с исходными значениями и данными в контрольной группе животных. Увеличение вертикального и горизонтального компонентов двигательной активности происходило в определенной последовательности. В первые сутки эксперимента регистрировалось повышение ГДА на 53% ($p < 0,02$) и частоты дефекаций на 10% ($p < 0,05$) на фоне снижения количества вертикальных стоек в 3 раза ($p < 0,01$) относительно значений в контрольной группе животных (табл. 1). Максимальное значение ВерДА зафиксировано на 3-и сутки ограничения подвижности, когда оно в 5 раз превысило уровень контрольных значений ($p < 0,05$). Необходимо отметить, что значения ГДА и ВерДА находились выше исходного и контрольного значений на протяжении всего эксперимента, причем, наиболее резкие формы двигательного возбуждения наблюдались по ГДА, максимум которой зарегистрирован на 4-е и 7-е сутки эксперимента, когда его значение более, чем в 4 раза превышало контрольные данные ($p < 0,001$) (табл. 1, 2). В эти же сроки наблюдения обнаружено увеличение количества реакций дефекации по сравнению с контролем.

Такие изменения поведенческих реакций у «правшей» и «амбидекстров» свидетельствуют об увеличении возбудимости центральной нервной системы, что характерно для первой стадии гипокинетического стресса – стадии тревоги.

При ограничении подвижности крыс – «левшей» обнаружена картина, принципиально отличающаяся от описанной для крыс с другим профилем моторной асимметрии. Тестирование в ОП после первых суток ограничения подвижности выявило достоверное снижение ГДА на 41% ($p < 0,001$) и тенденцию к снижению ВерДА относительно соответствующих показателей у животных контрольной группы. В последующие дни эксперимента снижение общей двигательной активности было более выражено, чем у интактных животных. Так, на 4-е сутки ограничения подвижности ВерДА составила всего 33%, а на 6-е сутки ГДА – 41% от значений этого показателя в контроле ($p < 0,001$). На фоне угнетения двигательной активности у животных этой группы происходило существенное увеличение количества актов дефекации. Это явление было особенно выражено на 4-е сутки эксперимента, когда частота реакций дефекации превысила уровень контрольных значений в 6 раз ($p < 0,001$).

Такие разнонаправленные изменения изучаемых поведенческих реакций у крыс выделенных групп под влиянием ГК, вероятно, связаны с разным типом ИПФА и исходным уровнем двигательной активности животных.

Принимая во внимание литературные [15] и собственные данные, очевидно, что у крыс «правшей» и «амбидекстров», у которых зарегистрирован наиболее значительный рост обоих компонентов двигательной активности при ГК, а, следовательно, возрастание возбудимости, поведенческие реакции на хронический стресс являются наиболее адаптивными. Наоборот, у крыс – «левшей» зарегистрировано значительное снижение двигательной активности в ОП, т. е. уменьшение возбудимости. По-видимому, в ответ на сильные (в данном случае ГК) воздействия у животных этой группы развивалось запредельное торможение.

Следовательно, ограничение подвижности крыс – «левой» с ВДА привело к резкому снижению обоих компонентов двигательной активности и увеличению количества реакций дефекации, что указывает на развитие процессов торможения в ЦНС.

В настоящем исследовании установлено, что ограничение подвижности крыс вызывает и изменение эмоциональной сферы. У «амбидекстров» и «правшей» происходило компенсаторное увеличение горизонтальной и вертикальной двигательной активности и реакции дефекации, напротив, у крыс - «левой» наблюдалось значительное снижение обоих компонентов двигательной активности на фоне повышения реакции дефекации, что свидетельствует о развитии различных эмоциональных реакций у животных: у «амбидекстров» и «правшей» - эмоциональной реакции тревожности; у «левой» - страха [16].

Негативные эмоциональные состояния типа страха или повышенной тревожности рассматриваются в настоящее время в качестве одной из главных причин низкой стрессоустойчивости и привлекают внимание многих исследователей [17, 18], поскольку именно они во многом определяют дальнейшее развитие адаптационных процессов во всех функциональных системах [18].

Таким образом, результаты данного исследования свидетельствуют о том, что крысы, имеющие разный профиль моторной асимметрии, отличаются индивидуально-типологическими особенностями поведения в тесте «открытого поля».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Различие в моторной асимметрии у крыс обратно коррелирует ($r = -0,68$; $p < 0,05$) с уровнем двигательной активности животных: высоким у крыс с левосторонней, средним – с правосторонней моторными асимметриями и низким у крыс, не имеющих выраженной моторной асимметрии.
2. Экспериментальное девятисуточное ограничение подвижности вызывает выраженные изменения поведенческих реакций животных в тесте «открытого поля», проявления которых существенно зависят от моторной латерализации: у животных «амбидекстров» и «правшей» компенсаторное увеличение горизонтальной и вертикальной двигательной активности и реакции дефекации; у крыс - «левой» значительное снижение обоих компонентов двигательной активности на фоне повышения реакции дефекации.
3. Гипокинетический стресс приводит к развитию различных эмоциональных реакций у животных с разным профилем моторной асимметрии: у «амбидекстров» и «правшей» - эмоциональной реакции тревожности; у «левой» - страха.

Список литературы

1. Кулагин Д.А. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке / Д.А. Кулагин, Б.К. Болондинский // Успехи физиологических наук. – 1986. – № 1. – С. 92-110.
2. Хомская Е.Д. Нейропсихология индивидуальных различий / Е.Д. Хомская, Н.В. Ефимова, Е.В. Будыка [и др.] // – М.: Росс. пед. агентство, 1997. – 281 с.
3. Брагина Н.Н. Функциональные асимметрии человека. / Н.Н. Брагина, Т.А. Доброхотова // – М.: Медицина, 1981. – 286 с.

4. Семенович А.В. Межполушарная организация психических процессов у левшей / А.В. Семенович // – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 95 с.
5. Семенович А.В. Нейропсихологический подход к типологии онтогенеза / А.В. Семенович, А.А. Цыганок // Нейропсихология сегодня. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – С. 170-183.
6. Берус А.В. Исследование влияния фактора ведущего глаза на параметры спектра ЭЭГ и психологические показатели у правшей / А.В. Берус, О.И. Ивашенко, А.Б. Журавлев [и др.] // Физиология человека. – 1997. – Т. 23, № 2. – С. 50-59.
7. Трофимова Е.В. Особенности межполушарного взаимодействия у правшей и левшей по данным когерентного анализа ЭЭГ / Е.В. Трофимова // ЖВНД. – 2000. – Т. 50, № 6. – С. 943-951.
8. Удалова Г.П. Участие правого и левого полушарий в реализации лабиринтного навыка у мышей-самцов линии BFLD/c / Г.П. Удалова // ЖВНД. – 1996. – Т. 46, вып. 1. – С. 84-91.
9. Коваленко Е.А. Гипокинезия / Е.А. Коваленко, Н.Н. Гуровский. – М.: Медицина, 1980. – 307 с.
10. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон - М., 1991. – 268 с.
11. Бондаренко О.М. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / О.М. Бондаренко, Е.Б. Манухина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 126, № 8. – С. 157-160.
12. Маркель А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте “открытого поля” / А.Л. Маркель // ЖВНД. – 1981. – Т. 31, № 2. – С. 301-307.
13. Симонов П.В. Модификация типологии Айзенка для крыс / П.В. Симонов // ЖВНД. – 1984. – Т. 5. – С. 953-957.
14. Хоничева Н.М. Индивидуальные особенности поведения крыс: проявления тревожности / Н.М. Хоничева, И.А. Дмитриева, А.А. Хрущинская // ЖВНД. – 1984. – Т. 34, № 3. – С. 537-545.
15. Слоним А. Д. Виды и формы адаптивного поведения животных. Руководство по физиологии. Физиология поведения. Нейрофизиологические закономерности / А.Д. Слоним. – Л.: Наука, 1986. – С. 23-79.
16. Вальдман А.В. Фармакологическая регуляция внутривидового поведения / А.В. Вальдман, В.И. Пошивалов - Л.: Медицина, 1984. – 208 с.
17. Варганян Г.А. Химическая симметрия и асимметрия головного мозга / Г.А. Варганян, Б.И. Клементьев - М.: Медицина, 1991. – 190 с.
18. Володько Л.Ф. Динамика межполушарной асимметрии головного мозга у больных бронхиальной астмой на фоне медикаментозной терапии / Л.Ф. Володько, М.М. Кириллов, М.М. Орлова // Вестник новых мед. технологий. – 2001. – Т. 8, № 1. – С. 30-33.

Горна О.І. Зміни рухливої активності тварин із різним профілем моторної асиметрії в умовах норми і гіпокінетичного стресу / О.І. Горна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 25-33.

Вивчено зміни рухливої активності тварин із різним профілем моторної асиметрії при дії гіпокінетичного стресу. Показано, що розвиток гіпокінетичного стресу у щурів внаслідок обмеження їх рухливості приводить до розвитку різних емоційних реакцій у тварин із різним профілем моторної асиметрії: у «амбідекстрів» та «правшів» проявою емоційної реакції тривоги; у «левшів» емоційною реакцією тривоги.

Ключові слова: рухлива активність, поведінкові реакції, моторна асиметрія, гіпокінетичний стрес.

Gornaya O.I. The change of animals' motor activity with different type norm and of the motor asymmetry under the condition of hipokinesia / O.I. Gornaya // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 25-33.

The changes of animals' motor activity with different type of motor asymmetry under the influence of hipokinetic stress are studied. It is described that the development of rats' hiokinetic stress as a result of their mobility restriction causes the development of different emotional reactions of animals with different type of the motor asymmetry: the occurrence of anxiety emotional reaction of “ambidexterity” and “right-handed person”; fear emotional reaction of “left-handed person”.

Keywords: motor activity, behavioral reactions, motor asymmetry, hipokinetic stress.

Поступила в редакцію 11.04.2013 г.

УДК 612.65 : 616-056.216

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ЗЕРКАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Дягилева Ю.О., Белалов В.В., Павленко В.Б.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: yulia_dyagileva@mail.ru*

В статье приводится описание методики исследования активности зеркальных нейронов у детей в возрасте от 1 до 3 лет. Предлагаемая методика отличается эффективностью, простотой и быстротой выполнения, что необходимо для работы с детьми раннего возраста. Позволяет оценить активность головного мозга при демонстрации целевого и нецелевого действия, что характеризует понимание ребенком действий другого человека. Анализ ЭЭГ ребенка в момент выполнения действия и сравнение реактивности мю-ритма при действиях наблюдение/выполнение дает возможность оценить активность зеркальных нейронов. Использование программы EEG Mapping 3.0 позволяет детально анализировать ЭЭГ, проводить спектральный анализ и топографическое картирование в заданных частотных диапазонах ЭЭГ.

Ключевые слова: зеркальные нейроны, мю-ритм, ЭЭГ, дети раннего возраста.

ВВЕДЕНИЕ

Зеркальные нейроны – это нейроны, которые активируются как при выполнении человеком определенных действий, так и тогда, когда этот человек просто смотрит, как эти действия выполняет кто-то другой. Предполагается, что благодаря системе этих нейронов, человек имплицитно понимает и предвосхищает действия других людей, не прибегая к сложным сознательным умозаключениям [1]. Активность зеркальных нейронов мозга можно исследовать несколькими методами. Первый, регистрация активности отдельных нейронов – это инвазивный метод, поэтому существуют лишь единичные клинические исследования активности нервных клеток, принадлежащих к зеркальной системе мозга человека [2]. Второй метод объединяет в себя различные виды томографии. С помощью этих методов было показано, что наблюдение и выполнение различных действий сопровождаются активацией задней части нижней лобной извилины, премоторной коры, и нижней теменной доли [3]. Эти области считают принадлежащими к зеркальной системе мозга человека, а по цитоархитектоническим свойствам они гомологичны областям мозга обезьяны, в которых также обнаружены зеркальные нейроны [4–8]. Однако, необходимость ограничений движений в период регистрации и высокая стоимость оборудования для проведения томографии ограничивают широкое использование этого метода, особенно в исследованиях с участием детей раннего возраста. Третий способ – это электроэнцефалография. Критерием идентификации активности зеркальных нейронов при действиях наблюдение/выполнение считается

реактивность сенсомоторного альфа (или мю)-ритма ЭЭГ [7, 8]. Этот метод неинвазивный и получает все большее распространение для изучения зеркальных свойств мозга, а у детей является единственной альтернативой всех остальных методов. В тоже время, актуальным вопросом остается разработка универсальной тестовой методики для активации системы зеркальных нейронов у детей раннего возраста (от 1 до 3 лет).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включает в себя регистрацию ЭЭГ при проведении тестовых заданий на активацию зеркальных нейронов головного мозга ребенка. Отведение ЭЭГ осуществляется по общепринятой методике с помощью современного 16-ти канального электроэнцефалографа «TREDEX Эксперт ТМ». Все тестовые задания предъявляет экспериментатор. Задания включают целенаправленное и нецеленаправленное действие. Существуют исследования доказывающие, что система зеркальных нейронов активируется сильнее при выполнении целенаправленного действия, по сравнению с нецеленаправленным [9, 10].

Ребенок сидит за столом. На столе перед ребенком устанавливается игрушечная горка (на расстоянии 15 см от края стола) ее спуск ориентирован вправо относительно положения ребенка. Задания выполняются в три этапа. Первый, нецеленаправленное действие – экспериментатор имитирует как будто он ставит что-то на горку и толкает. Второй этап, целенаправленное действие, экспериментатор ставит на горку игрушечную машинку и сталкивает ее с горки. Третий этап, экспериментатор ставит на горку машинку и ее должен столкнуть ребенок. Ребенку не дается никаких инструкций. Он должен сам догадаться толкнуть машинку (рис. 1, А). Проведение всех этапов исследования занимает не более 3-х мин. Весь эксперимент проводится в условиях видеорегистрации.

Предлагаемая нами методика, во-первых, отличается простотой выполнения (для ее выполнения ребенок должен совершать лишь минимальное количество моторных действий, что уменьшает двигательные артефакты в ЭЭГ) и понятна ребенку в возрасте от 1-го года до 3-х лет. Во-вторых, методика отличается простотой предъявления заданий, т.к. основные действия выполняет экспериментатор без использования видеопрезентации. При этом, можно ожидать, что зеркальные нейроны будут эффективно вовлекаться в процесс обработки информации. Так, с участием взрослых испытуемых было показано, что при предъявлении заданий экспериментатором, по сравнению с видеопрезентацией, реактивность мю-ритма увеличивается на 15-20% [11]. В тоже время экспериментатору необходимо строго соблюдение одинаковых условий для каждого участника эксперимента.

Для записи и интерпретации ЭЭГ в работе используется разработанная нами компьютерная программа (А.с. 32317. Комп'ютерна програма для запису та аналізу електроенцефалограми з паралельним записом мови. EEG Mapping 3.0.). Данная программа позволяет регистрировать текущую ЭЭГ с одновременной записью речи. Окно работы этой программы показано на рис. 2.

После проведения исследования ЭЭГ-файлы синхронизируются с видеозаписью, что позволяет нам оценить выполнение заданий, уровень внимания ребенка, отсутствие движений и вокализации. Затем ЭЭГ оценивается визуально. При наличии артефактов движения или напряжения мышц, распространяющихся по всей ЭЭГ, запись исключается из анализа.

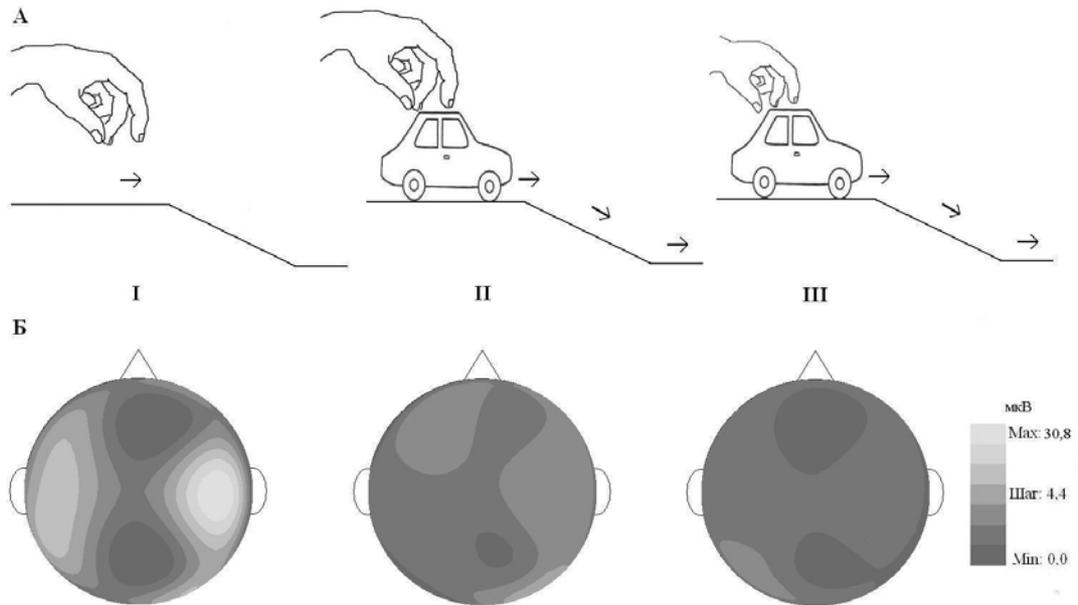


Рис. 1. Схематическое изображение этапов эксперимента (А) и топографические карты мю-ритма ЭЭГ (7-8 Гц) ребенка 3-х лет при прохождении разных этапов эксперимента (Б)

I – «имитация»; II – демонстрация; III – выполнение ребенком.

Полученные данные обрабатываются путем сравнения фрагментов ЭЭГ ребенка при выполнении разных этапов эксперимента. ЭЭГ анализируется в отведениях F3, F4, C3, C4, P3, P4 – эти отведения соответствуют анатомическому расположению системы зеркальных нейронов. Анализу подвергается мю-ритм ЭЭГ. Мю-ритм характеризуется частотами, которые находятся в диапазоне альфа-ритма. При этом учитывается то, что альфа-ритм не является статичным и его частотный диапазон изменяется с возрастом. Marshall и др. [12] показали, что частота альфа-ритма возрастает в период от новорожденности до раннего детства. У 5-ти месячного ребенка частота мю-ритма 5-6 Гц, и эта частота увеличивается до 8 Гц к 2-х летнему возрасту, а в возрасте 4-х лет мю-ритм имеет такие же частотные диапазоны, как и у взрослых людей – 9-10 Гц. Исходя из этих данных, мы индивидуально определяли границы мю-ритма у каждого ребенка, участвующего в исследовании, с помощью построения спектров и топографических карт в программе EEG Mapping 3.0 для разных этапов эксперимента (рис. 1.Б).

Статистическая обработка проводилась с применением t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

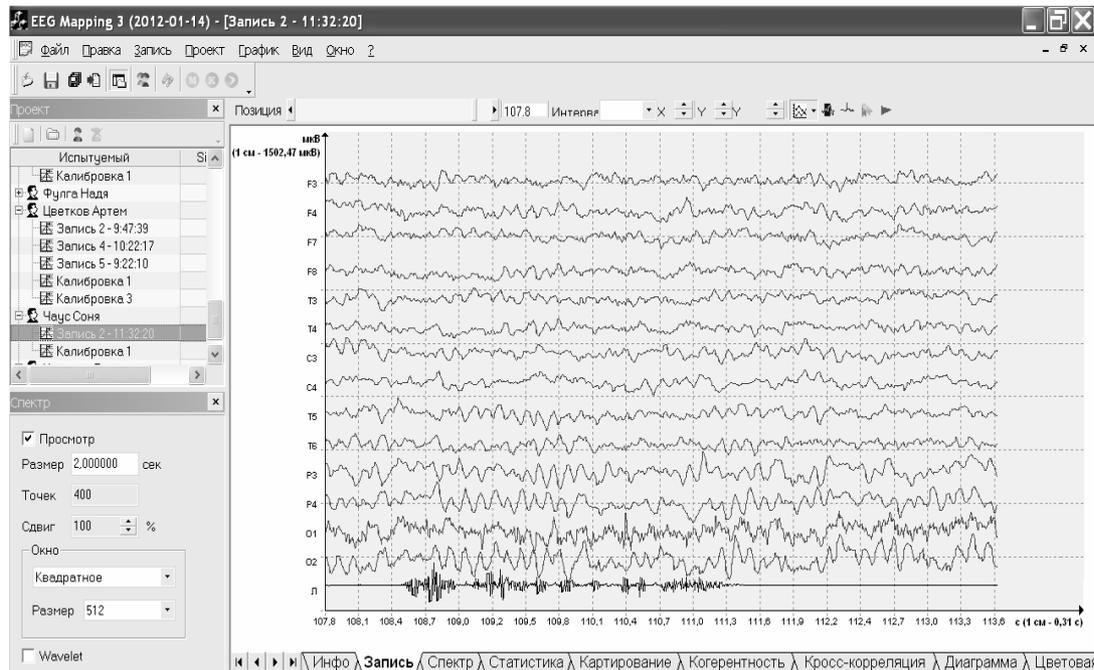


Рис. 2. Окно работы компьютерной программы для записи и анализа электроэнцефалограммы с параллельной записью речи. F3-O2 – отведения ЭЭГ; Л – канал для записи речи.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании приняло участие 17 детей обоего пола (7 девочек, 10 мальчиков). Из них двое детей не выполнили 3 этап эксперимента и не столкнули машинку с горки, запись ЭЭГ еще двоих детей отличалась наличием множественных двигательных артефактов. Результаты исследования этих детей были исключены из анализа.

Выявлено, что при проведении разных этапов эксперимента наблюдается изменение амплитуды мю-ритма ЭЭГ в диапазоне 7-8 Гц. При этом отмечается сходное снижение амплитуды указанного ритма, как при «демонстрации действия», так и при выполнении этого же действия ребенком, по сравнению с амплитудой мю-ритма при «имитации действия». Такие изменения наблюдаются в отведениях F3, F4, C3, C4, P3, P4. В тоже время, достоверные изменения выявлены только в отведениях C3 и C4 (рис. 3). Так, в отведении C3 амплитуда мю-ритма при «имитации» действия составила $27,4 \pm 8,2$ мкВ, при «демонстрации действия» - $19,8 \pm 7,6$ мкВ и при выполнении действия ребенком $19,4 \pm 7,1$ мкВ, а в отведении C4 эти показатели составили $27,5 \pm 9,0$; $16,6 \pm 8,7$ и $18,7 \pm 8,6$ мкВ, соответственно.

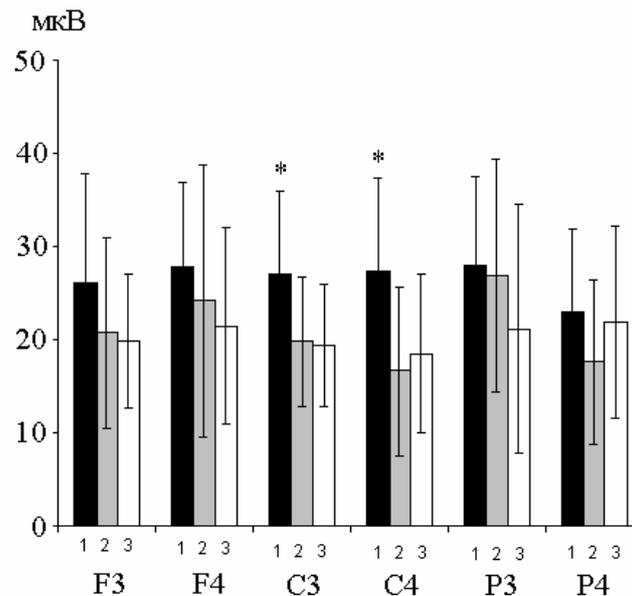


Рис. 3. Амплитуда мю-ритма ЭЭГ во время разных этапов эксперимента.

1 – «имитация»; 2 – демонстрация; 3 – выполнение ребенком.

F3, F4 – лобные; C3, C4 – центральные; P3, P4 – теменные отведения ЭЭГ, левые и правые, соответственно.

Звездочками отмечены достоверные различия ($p \leq 0,05$) в величине мю-ритма одновременно между 1 и 2; 1 и 3 этапами эксперимента.

Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований по выявлению ЭЭГ индикаторов активности зеркальных нейронов у детей. Так, в работах P. Nystrom показана значительная десинхронизация мю-ритма у 8-ми месячных детей при наблюдении за тем, как экспериментатор хватает движущийся игрушечный поезд [13]. Fecteau и др. выявили подавление мю-ритма у девочек в возрасте 36 месяцев, когда они рисовали сами и смотрели, как рисует экспериментатор [14]. В исследовании детей 14-16 месяцев van Elk и др. [15] регистрировали ЭЭГ при наблюдении за детьми, которые ходят или ползают. Они обнаружили большую величину десинхронизации мю-ритма при наблюдении за процессом ползания, по сравнению с ходьбой. Амплитуда десинхронизации мю-ритма была достоверно связана с уровнем ползания (опытом) детей. Хотя понимание ребенком действия другого ребенка в этой работе не оценивалось, это исследование показывает, что величина десинхронизации мю-ритма напрямую связана с опытом и способностями, которые имеются у ребенка. Marshall et al. исследовали десинхронизацию мю-ритма у детей в возрасте 14-ти месяцев во фронтальных, центральных и париетальных отведениях при наблюдении и выполнении преднамеренных действий. Авторы выявили наибольшую десинхронизацию мю-ритма в лобных, центральных и теменных отведениях ЭЭГ в

процессе наблюдения и только в центральных отведениях при выполнении действия [16]. Warreyn и др. выявили наибольшую десинхронизацию мю-ритма в центральных отведениях ЭЭГ как при действиях наблюдения, так и при двигательном исполнении [17].

В проведенном нами исследовании также показана достоверная десинхронизация мю-ритма. Исходя из литературных данных, такая десинхронизация мю-ритма может быть рассмотрена, как критерий активации зеркальных нейронов мозга ребенка. Поэтому результаты проведенного исследования доказывают эффективность разработанной нами методики для идентификации активности зеркальных нейронов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предлагаемая методика отличается эффективностью, простотой и быстротой выполнения, что необходимо для работы с детьми раннего возраста. Позволяет оценить активность головного мозга при демонстрации целевого и нецелевого действия, что характеризует понимание ребенком действий другого человека. Анализ ЭЭГ ребенка в момент выполнения действия и сравнение реактивности мю-ритма при действиях наблюдение/выполнение дает возможность оценить активность зеркальных нейронов. Использование программы EEG Mapping 3.0 позволяет детально анализировать ЭЭГ, проводить спектральный анализ и топографическое картирование в заданных частотных диапазонах ЭЭГ.

Список литературы

1. Рамачандран В. Разбитые зеркала: теория аутизма / В. Рамачандран, Л. Оберман // В мире науки. – 2007. – № 3. – С. 34–46.
2. Single-neuron responses in humans during execution and observation of actions / R. Mukamel, A.D. Ekstrom, J. Kaplan [et al.] // *Current Biology* / - 2010. – V. 20. – P. 750–756.
3. Action observation activates premotor and parietal areas in a somatotopic manner: an fMRI study / G. Buccino, F. Binkofski, G.R. Fink [et al.] // *European Journal of Neuroscience* / - 2001. – V. 13. – P. 400–404.
4. Brain areas selective for both observed and executed movements / I. Dinstein, U. Hasson, N. Rubin [et al.] // *Journal of Neurophysiology*. – 2007. – V. 98. – P. 1415–1427.
5. Cortical mechanisms of human imitation / M. Iacoboni, R.P. Woods, M. Brass [et al.] // *Science*. – 1999. – V. 286. – P. 2526–2528.
6. Manthey S. Premotor cortex in observing erroneous action: an fMRI study / S. Manthey, R.I. Schubotz, D.Y. von Cramon // *Cognitive Brain Research*. – 2003. – V. 15. - P. 296–307.
7. Molenberghs P. Brain regions with mirror properties: a meta-analysis of 125 human fMRI studies / Molenberghs, R. Cunnington, J.B. Mattingley // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. – 2012. – V. 36. – P. 341–349.
8. Ross E. The mirror mechanism and mu rhythm in social development / R. E. Vanderwert, N. A. Fox, P. F. Ferrari // *Neuroscience Letters*. – 2013 (article in press).
9. Muthukumaraswamy S.D. Mu rhythm modulation during observation of an object-directed grasp / S.D. Muthukumaraswamy, B.W. Johnson, A. McNair // *Cognitive Brain Research*. – 2004. –V. 19. – P. 195–201.
10. Lepage J-F. EEG evidence for the presence of an action observation-execution matching system in children / J-F. Lepage, H. Théoret // *European Journal of Neuroscience*. – 2006. – V. 23. – P. 2505-2510.

11. Stronger reactivity of the human primary motor cortex during observation of live rather than video motor acts / J. Järveläinen, M. Schürmann, S. Avikainen [et al.] // *NeuroReport*. – 2001. – V. 12. – P. 3493–3495.
12. Marshall P.J. Development of the EEG from 5 months to 4 years of age / P.J. Marshall, Y. Bar-Haim, N.A. Fox // *Clinical Neurophysiology*. – 2002. – V. 113. – P. 1199–1208.
13. Nystrom P. The infant mirror neuron system studied with high density EEG / P. Nystrom // *Social Neuroscience*. – 2008. – V. 3. – P. 334–347.
14. A motor resonance mechanism in children? Evidence from subdural electrodes in a 36-month old child / S. Fecteau, L. Carmant, C. Tremblay [et al.] // *NeuroReport*. – 2004. – V. 15. – P. 2625–2627.
15. You'll never crawl alone: neurophysiological evidence for experience-dependent motor resonance in infancy / M. van Elk, H.T. van Schie, S. Hunnius [et al.] // *Neuroimage*. – 2008. – V. 43. – P. 808–814.
16. Marshall P.J. Neural correlates of action observation and execution in 14-monthold infants: an event-related EEG desynchronization study / P.J. Marshall, T. Young, A.N. Meltzoff // *Developmental Science*. – 2011. – V. 14. – P. 474–480.
17. Infants' mu suppression during the observation of real and mimicked goal-directed actions / P. Warreyn, L. Ruyschaert, J. R. Wiersema [et al.] // *Developmental Science*. – 2012. – P 1–12.

Дягілева Ю.О. Методика дослідження активності дзеркальних нейронів у дітей раннього віку / Ю.О. Дягілева, В.В. Белалов, В.Б. Павленко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 34-40.

У статті наводиться опис методики дослідження активності дзеркальних нейронів у дітей у віці від 1 до 3 років. Запропонована методика відрізняється ефективністю, простотою і швидкістю виконання, що необхідно для роботи з дітьми раннього віку. Дозволяє оцінити активність головного мозку при демонстрації цільової та нецільової дії, що характеризує розуміння дитиною дій іншої людини. Аналіз ЕЕГ дитини в момент виконання дії і порівняння реактивності мю-ритму при діях спостереження / виконання дає можливість оцінити активність дзеркальних нейронів. Використання програми EEG Mapping 3.0 дозволяє детально аналізувати ЕЕГ, проводити спектральний аналіз і топографічне картування в заданих частотних діапазонах ЕЕГ.

Ключові слова: дзеркальні нейрони, мю-ритм, ЕЕГ, діти раннього віку.

Dyagileva Iu.O. The technique to study the activity of mirror neurons in toddlers / Iu.O. Dyagileva, V.V. Belalov, V.B. Pavlenko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 34-40.

The article describes a technique of research activity of mirror neurons in children aged 1 to 3 years. The proposed method is efficient, simplicity and quickness of execution, it is necessary to work with young children. This technique allows to evaluate the activity of the brain during a demonstration of goal-directed and non-goal-directed action that determines the child's understanding of another person's actions. Analysis of toddlers' EEG at the time of the action execution and comparing the reactivity of mu-rhythm in action observation / execution makes it possible to assess the activity of mirror neurons. Using the program EEG Mapping 3.0 allows perform analysis of the EEG, to carry out spectral analysis and topographic mapping in the EEG specified frequency bands.

Keywords: mirror neurons, mu-rhythm, EEG, toddlers.

Поступила в редакцію 18.04.2013 г.

УДК 577.112:612

ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Ёлкина Н.М.¹, Коношенко С.В.²

¹Крымский факультет Запорожского национального университета, Симферополь, Украина;

²Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

E-mail: nataleiolkina@gmail.com

Установлено, что в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией (заболевания онкологического характера) существенно повышается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы. В эритроцитах больных железодефицитной анемией наблюдается незначительное повышение активности соответствующих энзимов на уровне тенденции.

Ключевые слова: эритроциты, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, каталаза, эритремия, апластическая анемия, железодефицитная анемия.

ВВЕДЕНИЕ

Выявление молекулярных основ различных заболеваний и патологических состояний организма человека является одной из проблем современной медицины и биологии [1-3]. Известно, что при многих заболеваниях нарушается прооксидантно-антиоксидантное равновесие, в результате чего интенсифицируются свободно-радикальные реакции и развивается окислительный стресс [1-4]. Это приводит к гиперпродукции активных форм кислорода (АФК), мишенью действия которых являются различные клетки и клеточные структуры, в том числе эритроциты [5].

Большое значение для поддержания в клетках прооксидантно-антиоксидантного баланса и внутриклеточного восстановительного потенциала имеют реакции, которые катализируют глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза и каталаза. Учитывая это, представляло интерес изучить активность этих энзимов в эритроцитах при заболеваниях гематологического характера (эритремия, апластическая анемия и железодефицитная анемия), что и явилось целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили эритроциты практически здоровых людей (20 человек) – доноров станции переливания крови г. Симферополя и больных: эритремией I стадии (9 человек), апластической анемией (11 человек) и железодефицитной анемией (9 человек). В каждой обследованной группе соотношение мужчин и женщин было приблизительно одинаковым. Возраст больных эритремией был, в среднем, 56 лет; возраст больных апластической

анемией – в среднем, 54,5 года; больных железодефицитной анемией – 54 года. Критерием для исключения из исследований были тяжелая артериальная гипертензия, декомпенсация легочно-сердечной недостаточности, наличие тяжелых форм аритмий. Кровь больных брали на базе Крымского онкологического центра при поступлении в стационар, до лечения.

Эритроциты гемолизировали по методу Драбкина [6]. В гемолизатах эритроцитов определяли активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [7], глутатионредуктазы [8] и каталазы [9], используя спектрофотометрические методы биохимического анализа. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследований, в гемолизатах эритроцитов больных эритремией и апластической анемией достоверно повышается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы: в 1,72 и 1,76 раза по сравнению с контрольной группой (таблица 1). В эритроцитах больных железодефицитной анемией активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы оставалась на уровне контрольной группы, проявлялась лишь тенденция к повышению данного показателя.

Повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией представляет большой интерес, поскольку данный фермент катализирует «пусковую» реакцию пентозофосфатного пути превращения глюкозы, поставляющего восстановительные эквиваленты в форме НАДФН · Н⁺. В эритроцитах НАДФН · Н⁺ используется как кофактор, в основном, двумя ферментами: метгемоглобинредуктазой, обеспечивающей образование восстановленной формы гемоглобина, и глутатионредуктазой, катализирующей восстановление окисленного глутатиона [10]. Для эритроцитов эти восстановительные реакции имеют большое значение, так как предупреждают накопление функционально-инертной метформы гемоглобина и способствуют поддержанию оптимального уровня восстановленного глутатиона, необходимого для стабилизации, прежде всего, SH-ферментов, в активном центре которых имеется каталитически значимый остаток цистеина с реакционно-активной SH-группой [10].

Изучение активности глутатионредуктазы показало, что при эритремии и апластической анемии активность этого фермента в эритроцитах возрастает в 1,76 и в 1,77 раза, соответственно (таблица 1). В группе больных железодефицитной анемией активность эритроцитарной глутатионредуктазы практически не менялась (отмечено некоторое повышение показателя на уровне тенденции).

Обращает на себя внимание тот факт, что при эритремии и апластической анемии, заболеваниях онкологического характера, изменения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы являются не только однонаправленными, но и близкими по степени выраженности.

Это позволяет предположить, что повышение активности глутатионредуктазы в эритроцитах больных эритремией и апластической анемией обусловлено более интенсивным образованием кофактора фермента (НАДФН · Н⁺) за счет активизации реакции, катализируемой глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой. Подтверждением этого

ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ...

является также расчет соотношения активности глутатионредуктазы и активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Для всех обследованных групп этот показатель установлен в пределах 2,23-2,37 (2,23 – контрольная группа; 2,28 – больные эритремией; 2,24 – больные апластической анемией; 2,37 – больные железодефицитной анемией).

Таблица 1

Активность глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в гемолизатах эритроцитов больных эритремией, апластической анемией и железодефицитной анемией ($M \pm m$)

Обследованные группы	Активность глутатионредуктазы, $\text{нмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$	Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, $\text{нмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$
Контрольная группа	$0,105 \pm 0,013$	$0,047 \pm 0,002$
Больные эритремией	$0,185 \pm 0,018^*$	$0,081 \pm 0,005^*$
Больные апластической анемией	$0,186 \pm 0,02^*$	$0,083 \pm 0,007^*$
Больные железодефицитной анемией	$0,128 \pm 0,015$	$0,054 \pm 0,004$

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 2

Активность каталазы в гемолизатах эритроцитов больных эритремией, апластической анемией и железодефицитной анемией ($M \pm m$)

Обследованные группы	Активность каталазы, $\text{ммоль} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$
Контрольная группа	$0,240 \pm 0,040$
Больные эритремией	$0,475 \pm 0,050^*$
Больные апластической анемией	$0,430 \pm 0,050^*$
Больные железодефицитной анемией	$0,262 \pm 0,030$

Примечание: * – достоверность различия показателя по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Наряду с глутатионредуктазой одним из наиболее значимых для эритроцитов антиоксидантных энзимов является каталаза, обеспечивающая разрушение пероксида водорода, вероятность образования которого достаточно высока в условиях высокого парциального давления кислорода [11].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при эритремии и апластической анемии изменяется каталазная активность эритроцитов (таблица 2). В группе больных эритремией активность каталазы в эритроцитах была в 2,0 раза выше по сравнению с контрольной группой, у больных апластической анемией активность энзима превышала уровень показателя контрольной группы в 1,8 раза. У больных железодефицитной анемией активность эритроцитарной каталазы практически не менялась.

Таким образом, можно предположить, что при эритремии и апластической анемии в эритроцитах осуществляются биохимические перестройки, направленные на поддержание восстановительного потенциала эритроцитов и имеющие компенсаторно-адаптивное значение.

Это должно способствовать усилению антиоксидантной защиты эритроцитов, предупреждать накопление АФК и развитие необратимых изменений, ведущих к полной утрате эритроцитами их структурных и функциональных свойств.

В отличие от эритроцитов больных эритремией и апластической анемией в эритроцитах больных железодефицитной анемией активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы сохраняется на уровне контрольной группы, что доказывает отсутствие в условиях данной патологии глубоких изменений внутриэритроцитарного метаболизма.

Остается открытым вопрос о том, какой механизм обеспечивает повышение активности внутриэритроцитарных энзимов в условиях патологии. Не исключено активизирующее воздействие на энзимы некоторых полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Эффекторная функция ПНЖК – представителей семейства ω_3 уже обсуждалась в литературе последних лет [12]. Возможен и другой механизм активизации энзимов, который связан с высвобождением отдельных фракций мембраносвязанных ферментов, в том числе ферментов антиоксидантной системы. Любой из этих механизмов может иметь позитивное значение для эритроцитов, реализующих компенсаторно-адаптивные процессы в направлении повышения антиоксидантной активности и своего восстановительного потенциала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что при эритремии и апластической анемии в эритроцитах существенно повышается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы. Изменение активности этих энзимов может быть направлено на поддержание восстановительного потенциала эритроцитов и иметь компенсаторно-адаптивное значение.
2. При железодефицитной анемии отмечено незначительное повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и каталазы в эритроцитах, что прослеживается на уровне тенденции.

Список литературы

1. Меньщиков Е.Б. Окислительный стресс при воспалении / Е.Б. Меньщиков, Н.К. Зенков // Усп. совр. биол. – 1997. – Т. 117, № 2. – С.155-169.

2. Rice-Evans C. Oxygen toxicity free radicals and antioxidants in human disease: biochemical indication in atherosclerosis premature neonates / C. Rice-Evans, V. Gopinathan // *Essays Biochem.* – 1998. – V. 29. – P. 57-63.
3. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // *Биохимия.* – 2004. – Т. 69, вып. 1. – С. 5-7.
4. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
5. Новицкий В.В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком лёгкого и с опухолями головы и шеи / В.В. Новицкий, В.Е. Гольдберг, М.В. Колосова, Я.В. Булавина // *Бюл. exper. биол. и медиц.* – 1999. – Прил. 1. – С. 18-20.
6. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and hemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // *Arch. Biochem.* – 1949. – V. 21. – P. 224-226.
7. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов. – М.: Высшая школа, 1980. – 271 с.
8. Агабели Р.А. Антиоксиданты и антиоксидантные ферменты / Р.А. Агабели. – Баку, 1989. – 120 с.
9. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова и др. // *Лаб. дело.* – 1988, № 1. – С. 16-19.
10. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека / У. Мак-Мюррей. – М.: Мир, 1980. – 368 с.
11. Атауллаханов Ф.И. Энергозависимые процессы и метаболизм аденилатов в эритроцитах человека / Ф.И. Атауллаханов, В.М. Витвицкий, С.В. Комарова и др. // *Биохимия.* – 1996. – Т. 61, № 2. – С. 266-274.
12. Коржов В.И. Влияние ω -3-полиненасыщенных жирных кислот на активность глутатионзависимых ферментов в цитозоле печени и эритроцитах крови крыс в норме и при экспериментальном хроническом бронхите / В.И. Коржов, В.Н. Жадан // *Укр. біохім. журн.* – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 115-119.

Йолкіна Н.М. Ензимна активність еритроцитів за деяких гематологічних захворюваннях / Н.М. Йолкіна, С.В. Коношенко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 41-45.

Доведено, що в еритроцитах хворих на еритремію і апластичну анемію (захворювання онкологічного характеру) суттєво зростає активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонредуктази та каталази. В еритроцитах хворих на залізодефіцитну анемію спостерігається незначне підвищення активності відповідних ензимів на рівні тенденції.

Ключові слова: еритроцити, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, глутатіонредуктаза, каталаза, еритремія, апластична анемія, залізодефіцитна анемія.

Yolkina N.M. Enzymes activity of erythrocytes under some hematological diseases / N.M. Yolkina, S.V. Konoshenko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 41-45.

It has been shown, that in erythrocytes of patients with erythraemia and aplastic anemia (oncological diseases) the activity of glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutathione-reductase and catalase is rised. In erythrocytes of patients with iron-deficiency anemia the insignificant rising of corresponding enzymes activity is observed and it has the character of tendency.

Keywords: erythrocytes, glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutathione-reductase, catalase, erythraemia, aplastic anemia, iron-deficiency anemia.

Поступила в редакцію 21.04.2013 г.

УДК 612.82:612.13

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА КЕДРА НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЧЕЛОВЕКА

Кириллова А.В., Янцев А.В., Панова С.А.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: kyryllova.alla@mail.ru*

Работа направлена на исследование влияния эфирного масла кедра на психофизиологическое состояние человека. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии ароматерапии на психофизиологические показатели. При выполнении корректурной пробы количество ошибок уменьшается в 2,2 раза, достоверно повышаются показатели устойчивости внимания, точности выполнения задания и коэффициент умственной продуктивности.

Ключевые слова: эфирные масла, ароматерапия, психофизиологические показатели, устойчивость внимания, точность выполнения задания, умственная продуктивность.

ВВЕДЕНИЕ

Эфирные масла – это группа веществ, содержащихся в растительных тканях и способных к переноске водяным паром. Химические соединения, находящиеся в эфирных маслах, характеризуются сложным составом, они могут принадлежать к алифатическим, ароматическим и ациклическим соединениям. В настоящее время в них обнаружено свыше 50 полностью определенных химических соединений, таких как углеводороды, альдегиды, кетоны, кислоты, эфиры, фенолы, соединения содержащие азот и серу. Большую группу веществ, входящих в эфирные масла, составляют терпены [1].

По химической природе эфирные масла представляют смесь терпеновых углеводородов и их кислородных производных гетероциклических соединений и соединений ароматического ряда [2].

Терапевтический эффект эфирных масел обусловлен не только действием уникальных химических компонентов на тканевом, клеточном, субклеточном уровнях, но и с восприятием их запаха. Запахи эфирных масел через обонятельные рецепторы воздействуют на гипоталамо-гипофизарную систему, стимулируя высвобождение медиаторов и оказывая действия на психоэмоциональную сферу и вегетативную нервную систему. Таким образом воздействие эфирного масла многогранно и охватывает практически все системы организма [3].

В данном эксперименте аппаратная ароматерапия проводилась с лечебно-профилактической целью, а также для изучения влияния эфирного масла кедра на показатели внимания и умственной работоспособности у работников автотранспортного предприятия.

Целью данной работы явилось исследование влияния эфирного масла кедра на психофизиологическое состояние человека

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на базе автотранспортного предприятия г. Симферополя. В эксперименте принимали участие 30 мужчин в возрасте от 40 до 55 лет. Методом отбора были разделены на две группы: первая – контрольная (15 человек), вторая – экспериментальная (15 человек). Опытная группа подвергалась воздействию аппаратной ароматерапии. Аппаратная ароматерапия проводилась, как лечебно-профилактическое лечение на базе медицинского кабинета, аппаратом «Фитотрон».

Методика определения уровня внимания и умственной работоспособности.

В работе используются исследования умственной работоспособности при помощи корректурных буквенных проб (таблицы Анфимова). Таблицы помогают изучить особенности внимания при действии однообразных раздражителей, какими являются буквы. Различное количество одноименных букв в строках исключает возможность запоминания и одновременно требует большой сосредоточенности внимания. Анализ работы проводится в двух направлениях: оценивается качественная и количественная сторона внимания за один и тот же промежуток времени. При обработке данных подсчитывают общее количество просмотренных буквенных знаков, характеризующих объем и скорость выполнения задания; число зачеркнутых знаков заданного качества, содержащихся в общем количестве просмотренных букв; число допущенных ошибок (пропущенных букв).

Количественные показатели коэффициентов точности и умственной продуктивности оценивают (в условных единицах) концентрацию внимания.

Статистический анализ результатов исследования. Полученные в экспериментах данные подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 5.5. В модуле основных статистических характеристик выборочных совокупностей вычисляли средние значения, дисперсию, стандартное отклонение, ошибку средней арифметической, доверительные интервалы.

Для решения вопроса о степени соответствия распределений нормальной кривой вычисляли показатели асимметрии и эксцесса а также использовали тест на нормальность распределения Смирнова-Колмогорова. В отдельных случаях производили сопоставление статистических заключений, полученных посредством параметрических и непараметрических критериев.

Для сопоставления результатов, полученных на двух несвязанных выборках (контрольная и экспериментальная группы), применялся критерий Стьюдента, если соблюдались условия возможности его использования: нормальность распределения и количественный характер вариации. При нарушении этих условий применяли альтернативный критерий Манна-Уитни, близкий по статистической мощности к критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве источника информации в данном случае использовались результаты выполнения корректурной пробы, на основании которых регистрировалось количество допущенных ошибок, и производились расчеты показателей устойчивости внимания, точности выполнения задания и умственной продуктивности. В таблице 1 приводится анализ ошибок при выполнении корректурной пробы.

Таблица 1

Анализ ошибок при выполнении корректурной пробы

Показатель	Среднее значение	Миним. значение	Максим. значение	Дисперсия	Стандарт. отклонение	Ошибка средней
Контроль						
Количество ошибок «до»	10,5	1	34	56,91	7,74	1,40
Количество ошибок «после»	12,9	2	36	66,09	8,13	1,47
Эксперимент						
Количество ошибок «до»	13,30	2	30	41,67	5,63	1,03
Количество ошибок «после»	6,10	0	17	21,27	4,61	0,84

Среднее количество ошибок в контрольной группе до имитации вдыхания паров масла - $10,5 \pm 1,40$ и после воздействия - $12,9 \pm 1,47$, а также в экспериментальной группе до начала опыта - $13,3 \pm 1,03$ достоверно не различались. Также и диапазон вариации количества ошибок в контрольной группе и экспериментальной, до применения ароматерапии, был почти одинаков, и различия не выходили за границы статистической погрешности. В отличие от этого, ароматерапевтические воздействия существенно снизили количество ошибок, что наглядно демонстрирует приводимый ниже график (рис.1)

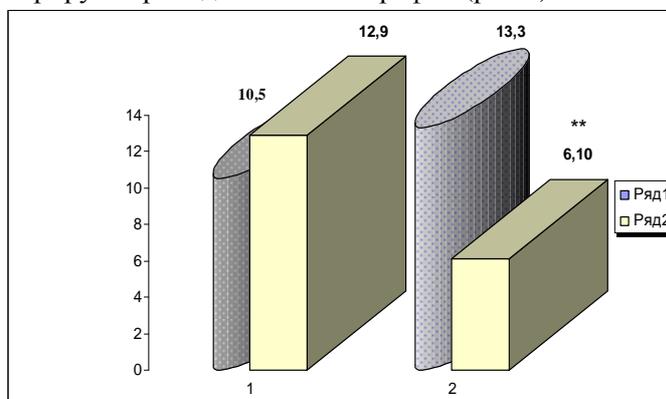


Рис.1. Измененные числа при прохождении корректурного теста
По оси ординат – количество ошибочных действий;
1 – контрольная группа; 2 – экспериментальная группа.
Цилиндры – до воздействия; параллелепипеды - после воздействия.
** - $p < 0,01$

График показывает хорошо выраженный положительный эффект ароматерапии: количество ошибок в экспериментальной группе после вдыхания паров масла снизилось в 2,2 раза.

Изменения показателя устойчивости внимания представлены в таблице 2

Таблица 2

Изменения показателя устойчивости внимания (ПУВ) при ароматерапии

ПОКАЗАТЕЛЬ	Среднее значение	Медиана	Миним. значение	Максим. значение	Диапазон вариации
ПУВ до воздействия	219,5	177,8	69,6	800,0	730,4
ПУВ после воздействия	492,3	320,0	94,1	1600,0	1505,9

Если принять исходные значения показателя за 100%, то его прирост после вдыхания паров пихтового масла составляет 124,3%, при $p < 0,001$

Коэффициент точности выполнения задания (КТ) представляет собой отношение вычеркнутых в карточке корректурной пробы заданных знаков к их общему количеству: $КТ = M/N$. Для создания равных условий для всех испытуемых количество заданных знаков во всех карточках было одинаково – 196. В таблице 3 представлены результаты статистического анализа.

Таблица 3

Изменения коэффициента точности выполнения задания (КТ) при ароматерапии

ПОКАЗАТЕЛЬ	Среднее значение	Медиана	Миним. значение	Максим. значение
КТ до воздействия	0,94	0,95	0,86	0,99
КТ после воздействия	0,96	0,97	0,90	1,00

Коэффициент умственной продуктивности рассчитывается как произведение коэффициента точности выполнения задания на общее количество просмотренных знаков: $КУП = КТ * С$. Каждая карточка для проведения корректурной пробы содержала 1600 знаков. Таблица 4 содержит результаты статистического анализа при вычислении коэффициента умственной продуктивности.

Таблица 4

Изменения коэффициента умственной продуктивности (КУП) при ароматерапии

ПОКАЗАТЕЛЬ	Среднее значение	Медиана	Миним. значение	Максим. значение
КУП до воздействия	1503	1520	1376	1584
КУП после воздействия	1542	1552	1440	1600

Как и во всех ранее рассмотренных случаях изменений психофизиологических показателей в процессе ароматерапии, коэффициент умственной продуктивности в результате экспериментального воздействия также достоверно повысился, что хорошо видно на рисунке 4.

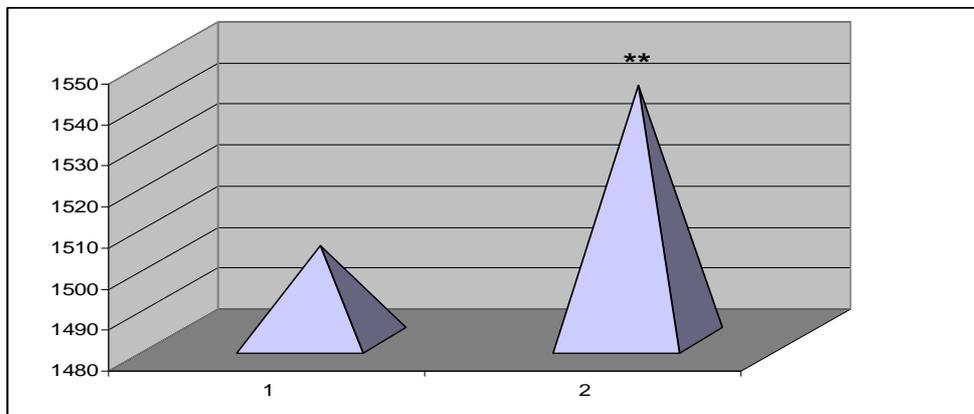


Рис. 4 Влияние паров кедрового масла на показатель умственной продуктивности

По оси ординат – значения показателя в единицах: 1 – до воздействия;
2 - после вдыхания паров пихтового масла,** - $p < 0,01$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Доказано положительное влияние ароматерапии на психофизиологические показатели. Доказано положительное влияние ароматерапии на психофизиологические показатели.
2. При выполнении корректурной пробы количество ошибок уменьшается в 2,2 раза.
3. Достоверно повышаются показатели устойчивости внимания (с 219,5 до 492,5), прирост составил 124,3%. Точность выполнения задания (с 0,94 до 0,96) и коэффициент умственной продуктивности (от 1503 до 1542), при $p < 0,001$.

Список литературы

1. Воканова С. А. Изучение противотуберкулезной активности эфирных масел / Воканова С. А., Макарова Л. В. // Материалы Всесоюзной научной конференции по фармакопее и клиническому изучению лекарственных препаратов из растений – М., 1972 г. – 213—233 с.
2. Волченко В. Н. Отчет о конференции «Наука на пороге XXI века — новые парадигмы». Сознание и физическая реальность / Волченко В.Н. - Москва, 1996 г., т. 1, № 1—2 – 116—119 с.
3. Голота Л. Г. Биологическая активность и фармакологические свойства эфирных масел мяты, лаванды, шалфея / Голота Л. Г., Нишенковская И. В. // Фармакология и токсикология.- Киев, 1991 г., вып. 26 –90—94 с.

Кириллова А.В. Вплив ефірної олії кедра на психофізіологічний стан людини / А.В. Кириллова, А.В. Янцев, С.А. Панова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 46-51.

Робота спрямована на дослідження впливу ефірної олії кедра на психофізіологічний стан людини. Отримані результати свідчать про позитивний вплив ароматерапії на психофізіологічні показники. При виконанні коректурної проби кількість помилок зменшується в 2,2 разу, достовірно підвищуються показники стійкості уваги, точність виконання завдання і коефіцієнт розумової продуктивності.

Ключові слова: ефірні олії, ароматерапія, психофізіологічні показники, стійкість уваги, точність виконання завдання, розумова продуктивність.

Kirillova A.V. Influence of essential oil of a cedar on a psychophysiological condition of person / A.V. Kirillova, A.V. Yantsev, S.A. Panova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 46-51.

Work is directed on research of influence of cedar essential oil on a psychophysiological condition of the human. The received results testify to positive influence of an aromatherapy on psychophysiological indicators. When performing proof test the quantity of mistakes decreases by 2,2 times, indicators of stability of attention, accuracy of performance of a task and coefficient of intellectual efficiency authentically raise.

Keywords: essential oils, aromatherapy, psychophysiological indicators, stability of attention, accuracy of performance of a task, intellectual efficiency.

Поступила в редакцію 21.04.2013 г.

УДК 567(477.5)

**МИОЦЕНОВАЯ И ПЛЕЙСТОЦЕНОВАЯ ИХТИОФАУНА
МНОГОСЛОЙНОГО МЕСТОНАХОЖДЕНИЯ ПРОТОПОПОВКА (ОДЕССКАЯ
ОБЛАСТЬ, УКРАИНА)**

Ковальчук А.Н.

*Национальный научно-природоведческий музей НАН Украины, Киев, Украина
E-mail: Biologist@ukr.net*

Приведены результаты определения ископаемых остатков пресноводных костистых рыб из позднемиоценовых и неоплейстоценовых отложений многослойного местонахождения Протопоповка (Одесская область). Osteологический материал обработан с помощью методик морфосистематического анализа. Установлено наличие 13 таксонов костистых рыб и осуществлено сравнение разновозрастных палеосообществ Протопоповки с поздненеогеновыми и раннеантропогеновыми ихтиокомплексами Украины и Европы.

Ключевые слова: костистые рыбы, поздний миоцен, мзотис, MN 12, неоплейстоцен, MQR 7, Протопоповка, многослойное местонахождение, Одесская область, Украина.

ВВЕДЕНИЕ

Становление современной фауны пресноводных костистых рыб Европы началось во второй половине палеогена [1]. Этот процесс продолжался в миоцене, сопровождаясь масштабной перестройкой экосистем на фоне значительных климатических изменений. С раннего миоцена фауна костистых рыб включает современные роды, а к концу миоцена в палеонтологической летописи появляется ряд современных видов или близких к ним форм [2]. В связи с этим исследование неогеновых и антропогеновых фаун костистых рыб представляет значительный интерес для понимания истории формирования современных сообществ.

Целью данной работы является краткое описание остатков позднемиоценовой (мзотической) и антропогеновой (неоплейстоценовой) ихтиофауны из многослойного местонахождения Протопоповка. Оно расположено на левом берегу Хаджибейского лимана на южной окраине одноименного села Беляевского района Одесской области [3-4]. В процессе исследований были выделены три костеносных горизонта, расположенные на разных гипсометрических уровнях и вмещающие фауну позвоночных животных различного возраста.

Из слоя сизых глин с прослоями и линзами серого глинистого гравелита (Протопоповка 3) получены кости позвоночных, датируемые средним мзотисом (MN 12). Горизонт Протопоповка 2 сложен серыми гравийными песками с включением гальки и содержит остатки ихтиофауны, мелких млекопитающих и моллюсков. Вероятно, осадконакопление происходило в начале раннего

неоплейстоцена (граница ортозон Брюнес и Матуяма, мартоношский термохрон), что было установлено на основании изучения остатков мелких млекопитающих [3]. Геологически наиболее молодой костеносный горизонт (Протопоповка 1) представляет собой толщу песков и гравелитов мощностью 0,8 м, содержащую кости рыб и млекопитающих, а также раковины пресноводных моллюсков. Возраст слоя оценивается как синхронный позднему этапу развития фаун тираспольского комплекса (зона MQR 7) [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Остеологический материал, принадлежащий пресноводным костистым рыбам, получен из всех трех аллювиальных толщ местонахождения. В сборах представлены 100 костных остатков, в том числе 14 из горизонта Протопоповка 1, 34 из слоя 7 (Протопоповка 2) и 52 – из наиболее древней (мэотической) костеносной толщи (Протопоповка 3). Ихтиологический материал составляют изолированные глоточные зубы карповых рыб, лучи плавников, отдельные позвонки с разрушенными остистыми отростками, обломки ребер.

Определение систематической принадлежности ихтиологического материала производилось автором по методике Е.К. Сычевской [6] на основании диагностических признаков скелета с использованием сравнительной коллекции отдела палеозоологии позвоночных и палеонтологического музея ННПМ НАНУ. В статье принята ихтиологическая систематика, приведенная Ю.В. Мовчаном [7]. Объем принятых в работе стратиграфических подразделений соответствует корреляционной схеме фаунистических ассоциаций позднего неогена Восточного Паратетиса по MN-зонам [8]. Палеоэкологический анализ сделан на основании сравнения с ранее описанными ихтиокомплексами Украины [9-13] и Европы [14-20]. Для количественной оценки степени сходства фаунистических списков разных местонахождений рассчитан коэффициент Жаккара (K_j).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фаунистический состав костеносного горизонта Протопоповка 3 довольно типичен для позднего миоцена юга Украины. По 52 костным остаткам установлено наличие 11 видов, принадлежащих к 10 родам. Преобладают карповые, являющиеся доминантной группой (определены 8 таксонов видового ранга, или 72,7% от общего числа), представители других семейств (Cobitidae, Siluridae, Percidae) составляют меньшинство. Ниже приведен список видов из ориктоценоза Протопоповки 3:

Язь <i>Idus idus</i> (L., 1758)	1 (№ 41/3225)
Плотва <i>Rutilus</i> sp.	1 (№ 41/3226)
Красноперка <i>Scardinius erythrophthalmus</i> (L., 1758)	4 (№ 41/3227-3230)
Лещ <i>Abramis</i> cf. <i>brama</i> (L., 1758)	2 (№ 41/3231-3232)
Подуст <i>Chondrostoma</i> sp.	5 (№ 41/3233-3237)
Усач <i>Barbus</i> sp.	2 (№ 41/3238-3239)
Линь <i>Tinca tinca</i> (L., 1758)	3 (№ 41/3240-3242)
Линь <i>Tinca</i> sp.	2 (№ 41/3243-3244)

Щиповка <i>Cobitis</i> sp.	1 (№ 41/3245)
Сом <i>Silurus</i> sp.	6 (№ 41/3246-3251)
Окуневые Percidae gen. et sp. indet.	3 (№ 41/3252-3254)

Видовой состав аллювиальной толщи Протопоповки 3 выявляет определенное сходство с близкими по возрасту сообществами пресноводных костистых рыб мзотиса юга Украины [9-10]. Так, в паре местонахождений Протопоповка 3-Егоровка 1 значение коэффициента Жаккара составляет 53,8% (7 общих видов). В то же время, несмотря на значительную схожесть фаунистических списков описываемого ихтиокомплекса и сообществ Новоелизаветовка 3, Егоровка 2 (8 общих таксонов видового ранга), Черевычного 3 (7 видов), K_j для этих пар местонахождений находится в диапазоне значений 36,8-53,3%. Четыре общих вида установлены для Протопоповки 3 и Третьей кручи ($K_j = 28,6\%$). Наименьшее сходство на видовом уровне выявлено между ихтиокомплексами Протопоповки 3 и Новоукраинки 2 – два общих таксона, коэффициент Жаккара – 16,6%.

Из аллювиальных отложений костеносного горизонта Протопоповка 2 получены 34 кости рыб, в том числе по 20 из них (58,8%) удалось установить наличие в сообществе 6 таксонов. Часть из них по причине плохой сохранности определена с использованием открытой номенклатуры:

Плотва <i>Rutilus</i> sp.	7 (№ 41/3255-3261)
Подуст <i>Chondrostoma</i> sp.	1 (№ 41/3262)
Карась <i>Carassius</i> sp.	1 (№ 41/3263)
Линь <i>Tinca</i> cf. <i>tinca</i> (L., 1758)	3 (№ 41/3264-3266)
Карповые Cyprinidae gen. et sp. indet.	1 (№ 41/3274)
Сом <i>Silurus</i> cf. <i>glanis</i> L., 1758	2 (№ 41/3267-3268)
Щука <i>Esox lucius</i> L., 1758	5 (№ 41/3269-3273)

Большинство идентифицированных видов (4 из 6, или 66,7%) принадлежат к семейству карповых. Сомовые и щуковые представлены единичными видами. По количеству остатков наиболее многочисленными были плотва (7 костей, или 35% от общего числа диагностических костей) и щука (соответственно, 5 и 25%).

На основании сравнения с близкими по возрасту местонахождениями Украины [11-12] установлено значительное сходство видовых списков рыб из Протопоповки 2 с сообществами Лысой Горы 1 (5 общих видов, коэффициент Жаккара – 35,7%) и Меджибожа (соответственно, 6 и 33,3%). В то же время, оценивая таксономическое разнообразие Протопоповки 2 и 1 (которые можно было бы считать последовательными стадиями развития одного ихтиокомплекса), получен сравнительно невысокий показатель коэффициента Жаккара (28,6%), поскольку только 2 вида являются общими для обоих ориктоценозов. Это позволяет нам предположить, что, несмотря на пространственную близость и небольшой разрыв во времени существования, сообщества Протопоповки 2 и 1 не были связаны между собой, следовательно, они существовали в разных водоемах. Для подтверждения или опровержения этого предположения необходимо получить дополнительный остеологический материал и на его основании строить определенные выводы.

Отдельные виды, описанные из аллювия Протопоповки 2, известны из разновозрастных плейстоценовых отложений Англии (West Runton) [16, 18], Германии (Stuttgart Wilhelma Bärenghege, Stuttgart quarries Hass und Lauster, Bilzingsleben) [15, 17], Испании (Barranco León 5) [14], Словении (Bobovek) [19], Польши (Barkowice) [20] и России (Bobkovo) [6].

Костистые рыбы из геологически наиболее молодого костеносного горизонта (Протопоповка 1), по сравнению с двумя другими аллювиальными толщами, представлены наименьшим количеством остатков (n=14, из них 5 (35,7%) диагностичных). Нами были идентифицированы три таксона видового ранга, два из которых относятся к семейству Cyprinidae, один – к Esocidae:

Красноперка <i>Scardinius erythrophthalmus</i> (L., 1758)	2 (№ 41/3338-3339)
Карась <i>Carassius</i> sp.	1 (№ 41/3340)
Щука <i>Esox lucius</i> L., 1758	2 (№ 41/3341-3342)

Несмотря на наличие представителей различных трофических (консументы I и II порядков) и экологических групп, этот ориктоценоз нельзя считать полноценным. Среди ранее описанных плейстоценовых пресноводных ихтиокомплексов Украины ни одно не отличается таким незначительным разнообразием на видовом уровне. В этом смысле сообщество Протопоповки 1 может быть сопоставлено лишь с таковым из древнего аллювия местонахождения Новоукраинка 2 [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В материалах из многослойного местонахождения Протопоповка установлено наличие 13 таксонов пресноводных костистых рыб, в том числе 11 для древнего (мэотического) костеносного горизонта (Протопоповка 3), 6 – в составе неоплейстоценового ориктоценоза Протопоповка 2. В составе сообщества из геологически наиболее молодого слоя (Протопоповка 1) представлены три вида. Значительное количество установленных таксонов по причине плохой сохранности и фрагментарности определены с использованием открытой номенклатуры.
2. Доминирующей группой в каждом сообществе являются представители семейства Cyprinidae, в то время как вьюновые (Cobitidae), сомовые (Siluridae), щуковые (Esocidae), окуневые (Percidae) определены по единичным экземплярам.
3. Видовой состав пресноводных костистых рыб из мэотического аллювия (Протопоповка 3, MN 12) сопоставим в широких пределах с ранее описанными сообществами юга Украины. Для Протопоповки 3 и Новоелизаветовки 3, Егоровки 2, Егоровки 1, Черевычного 3, Третьей кручи и Новоукраинки 2 определены соответственно по 8, 8, 7, 7, 4 и 2 общих вида. Максимальное значение (53,8%) коэффициент Жаккара принимает в паре Протопоповка 3-Егоровка 1, минимальное (16,8%) – Протопоповка 3-Новоукраинка 2.
4. Установлено значительное сходство видовых списков рыб из костеносного горизонта Протопоповка 2 с близкими по возрасту местонахождениями Украины (Лысая Гора 1, Меджибож), Англии (West Runton), Германии (Stuttgart Wilhelma Bärenghege, Stuttgart quarries Hass und Lauster, Bilzingsleben), Испании (Barranco León 5), Словении (Bobovek), Польши (Barkowice) и России (Bobkovo). В то же

время небольшое значение коэффициента Жаккара (28,6%) для пары Протопоповка 2-Протопоповка 1 позволяет предположить отсутствие связи между этими ихтиокомплексами и их независимое развитие в различных водоемах.

Список литературы

1. Яковлев В.Н. История формирования фаунистических комплексов пресноводных рыб / В.Н. Яковлев // Вопросы ихтиологии. – 1964. – Т. 4, вып. 1. – С. 10-22.
2. Ковальчук А.Н. Карповые рыбы (Cyprinidae) в палеонтологической летописи Украины / А.Н. Ковальчук // Современная палеонтология: классические и новейшие методы: тезисы IX Всерос. научн. школы молодых ученых-палеонтологов (1-3 октября 2012 г., ПИН им. А.А. Борисяка РАН). – М., 2012. – С. 25.
3. Крохмаль А.И. Местонахождения мелких млекопитающих плейстоцена Украины и сопредельных территорий / А.И. Крохмаль, Л.И. Рековец. – К. : LAT & K, 2010. – 300 с.
4. Рековец Л.И. Мелкие млекопитающие антропогена юга Восточной Европы / Л.И. Рековец. – К. : Наук. думка, 1994. – 370 с.
5. Вангенгейм Э.А. Зональное расчленение квартера Восточной Европы по мелким млекопитающим / Э.А. Вангенгейм, М.А. Певзнер, А.С. Тесаков // Стратиграфия. Геологическая корреляция. – 2001. – Т. 9, №3. – С. 76-88.
6. Пресноводная ихтиофауна неогена Монголии / Е.К. Сычевская. – М.: Наука, 1989. – 144 с. (Тр. Совм. советско-монгольск. экспед., палеонтол., вып. 39).
7. Мовчан Ю.В. Рыби України / Ю.В. Мовчан. – К., 2011. – 444 с.
8. Nesin V.A. Late Miocene and Pliocene small mammal faunas (Insectivora, Lagomorpha, Rodentia) of Southeastern Europe / V.A. Nesin, A. Nadachowski // Acta zoologica cracoviensia. – 2001. – Vol. 44, No 2. – P. 107-135.
9. Ковальчук А.Н. Сообщество пресноводных рыб в озерных отложениях позднемиоценового местонахождения Егоровка (Одесская область) / А.Н. Ковальчук // Збірник праць Зоологічного музею. – 2011. – № 42. – С. 128-136.
10. Ковальчук А.Н. Карповые рыбы в составе мезотических ориктоценозов Северного Причерноморья / А.Н. Ковальчук // Современные проблемы естественных наук: сб. научн. трудов, посвященный 155-летию со дня рождения академика П.А. Тутковского. – К., 2013. – С. 153-156.
11. Ковальчук О.М. Рештки прісноводних риб (Teleostei) з міоценових та плейстоценових відкладів місцезнаходження Лиса Гора (Запорізька обл.) / О.М. Ковальчук, Л.І. Рековець // Природничі науки: зб. наук. праць. – Суми: СумДПУ ім. А.С.Макаренка, 2012. – С. 108-113.
12. Ковальчук О.М. Анотований список видів прісноводних риб (Teleostei) із плейстоценового місцезнаходження Меджибіж (Хмельницька обл.) / О.М. Ковальчук // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: мат-ли V Міжнар. іхтіологічн. наук.-практичн. конф., присвяченої пам'яті І.Д. Шнаревича (Чернівці, 13-16 вересня 2012 р.). – Чернівці: Книги XXI, 2012. – С. 107-110.
13. Тарашук В.І. Матеріали до вивчення прісноводних риб з неогенових та антропогенових відкладів України / В.І. Тарашук // Збірник праць Зоологічного музею АН УРСР. – 1962. – №31. – С. 3-27.
14. Agustí J. The early Pleistocene small vertebrate succession from the Orce region (Guadix – Baza Basin, SE Spain) and its bearing on the human occupation of Europe / J. Agustí, H.A. Blain, M. Furió, R. De Marfà, A. Santos-Cubedo // Quaternary International. – 2010. – Vol. 223-224. – P. 162-182.
15. Böhme M. Neue Funde von Fischen, Amphibien und Reptilien aus dem Mittelpleistocän von Bilzingsleben / M. Böhme // Praehistoria Thuringiaca. – 1998. – Vol. 2. – P. 96-107.
16. Böhme M. Ectothermic vertebrates, climate and environment of the West Runton Freshwater Bed (early Middle Pleistocene, Cromerian) / M. Böhme // Quaternary International. – 2010. – doi: 10.1016/j.quaint.2010.06.021.
17. Böttcher R. Niedere Wirbeltiere (Fische, Amphibien, Reptilien) aus dem Quartär von Stuttgart / R. Böttcher // Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde, Seria B. Geologie und Paläontologie. – 1994. – Vol. 215. – P. 1-75.

18. Database of Vertebrates: fossil Fishes, Amphibians, Reptiles and Birds (fosFARbase) localities and taxa from the Triassic to the Neogene [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.wahre-staerke.com>.
19. Gaudant J. Sur la présence de *Leuciscus leuciscus* (L.) (Poisson téléostéen, Cypriniforme) dans le pléistocène de Bobovek, près de Kranj (Slovenia, Yugoslavia) / J. Gaudant. – Slov. Akad., Zb. Umentos Z 228 B, Razprave – Dissertationes XXI. – 1978. – P. 48-57.
20. Pawłowska K. Ichtiofauna łupkow interglacialnych (Masovien I) z Barkowic Mokrych koło Sulejowa / K. Pawłowska // Acta Palaeontologica Polonica. – 1963. – Vol. 8, No 4. – P. 475-493.

Ковальчук О.М. Міоценова і плейстоценова іхтіофауна багат шарового місцезнаходження Протопоповка (Одеська область, Україна) / О.М. Ковальчук // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 52-58.

Наведені результати визначення викопних решток прісноводних костистих риб із пізньоміоценових та неоплейстоценових відкладів багат шарового місцезнаходження Протопоповка (Одеська область). Osteologічний матеріал опрацьований за допомогою методик морфосистематичного аналізу. Встановлено наявність 13 таксонів костистих риб і здійснено порівняння різновікових палеоугруповань Протопоповки з пізньонеогеновими та ранньоантропогеновими іхтіокомплексами України і Європи.

Ключові слова: костисті риби, пізній міоцен, меотис, MN 12, неоплейстоцен, MQR 7, Протопоповка, багат шарове місцезнаходження, Одеська область, Україна.

Kovalchuk A.N. Miocene and pleistocene ichthyofauna of the multilayered locality protopopovka (Odessa region, Ukraine) / A.N. Kovalchuk // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 52-58.

Formation of the modern freshwater bony fish fauna in the Europe began in the second half of the Paleogene. This process continued in the Miocene, accompanied by a large-scale restructuring of ecosystems against the background of significant climate changes. From the early Miocene fauna includes modern bony fish genera, and by the end of the Miocene fossil record appears in a number of modern species or related forms. In this context the study of Neogene and Anthropogene bony fish fauna is of great interest for understanding the history of the formation of modern assemblages.

The purpose of the present paper is a brief description of the Late Miocene (Maeotian) and Anthropogene (Neopleistocene) fish fauna remains from the multilayered. It is situated on the left bank of the Hadzibejsky estuary on the southern outskirts of the Protopopovka village (Belaievsky district, Odessa region). Three fossiliferous alluvial strata, located on the different hypsometric levels and accommodated different-aged vertebrate fauna animals were identified during the previous study.

Results of determination of the fossil freshwater bony fish from the Late Miocene and Neopleistocene sediments of the multilayered locality Protopopovka were presented in the paper. Osteological material (near 100 bones, including 14 from the Protopopovka 1, 34 from the Protopopovka 2, and also 52 from the most ancient (Meotian) fossiliferous strata Protopopovka 3) is processed using modern techniques of morphosystematic analysis. Isolated pharyngeal teeth of the carp fish, fin rays, individual vertebrae with broken spines, rib fragments are the material for study.

Thirteen freshwater bony fish taxa were identified, including eleven for the ancient (Maeotian, MN 12) fossiliferous strata (Protopopovka 3), six – for the Neopleistocene Protopopovka 2 orictocoenosis. Three species are in the materials of the community from the most geologically younger layer (Protopopovka 1). A significant number of identified taxa because of poor preservation and fragmentation determined using open nomenclature.

Representatives of the family Cyprinidae are the dominant group in each community, while the loaches (Cobitidae), catfish (Siluridae), pikes (Esocidae), perches (Percidae) determined only by single specimens.

Freshwater bony fish species composition of Maeotian alluvium (Protopopovka 3, MN 12) is associated with a broad range of the previously described communities on the south of Ukraine. Eight, eight, seven, seven, four and two common species were defined for Protopopovka 3 and Novoelizavetovka 3, Egorovka 2, Egorovka 1, Cherevychnoe 3, Novoukrainka 2, respectively. The maximum Jaccard coefficient value (53,8%) takes a couple of Protopopovka 3-Egorovka 1, the minimum (16,8%) – for the Protopopovka 3-Novoukrainka 2.

A considerable similarity is shown between fish species lists of fossiliferous strata Protopopovka 2 and similar-in-age localities of Ukraine (Lysa Gora 1, Medzhibozh), England (West Runton), Germany (Stuttgart

Wilhelma Bärengehege, Stuttgart quarries Hass und Lauster, Bilzingsleben), Spain (Barranco León 5), Slovenia (Bobovek), Poland (Barkowice) and Russia (Bobkovo). At the same time, the small value of the Jaccard coefficient (28,6%) for a pair of Protopopovka 2-Protopopovka 1 suggests a lack of connection between its ichthyologic complexes and their independent development in different water bodies.

Keywords: teleostean fishes, Late Miocene, Maeotian, MN 12, Neopleistocene, MQR 7, Protopopovka, multilayered locality, Odessa, Ukraine.

References

1. Yakovlev V.N., The history of faunal assemblages of freshwater fishes. *Voprosy ichtyologii*, **4** (1), 10 (1964).
2. Kovalchuk A.N., Carp fish (Cyprinidae) in the paleontological record of Ukraine, *Reports of the 9th all-Russian scientific school for young scientists in paleontology* (Borissiak Paleontological Institute, Russian Academy of Sciences, Moscow, 2012), p. 25.
3. Krokhnal A.I., Rekovets L.I., *Localities of small mammals of the Pleistocene of Ukraine and adjoin countries*, 300 p. (LAT & K, Kyiv, 2010).
4. Rekovets L.I., *Small mammals of Anthropogene of the south of Eastern Europe*, 370 p. (Naukova Dumka, Kyiv, 1994).
5. Vangenheim E.A., Pevzner M.A., Tesakov A.S., Zonal division of the Quarter of Eastern Europe by small mammals, *Stratigraphy. Geological correlation*, **9** (3), 76 (2001).
6. Sytchevskaya E.K., Freshwater ichthyofauna of the Neogene of Mongolia, 144 p. (Nauka, Moscow).
7. Movchan Yu.V., *Fishes of Ukraine*, 444 p. (Kyiv, 2011).
8. Nesin V.A., Nadachowski A. Late Miocene and Pliocene small mammal faunas (Insectivora, Lagomorpha, Rodentia) of Southeastern Europe, *Acta zool. cracov.*, **44** (2), 107 (2001).
9. Kovalchuk A.N., Freshwater fish community in the lake deposits of Late Miocenian locality Egorovka (Odessa region), *Zbirnik prac Zoologichnogo muzeju*, **42**, 128 (2011).
10. Kovalchuk A.N., Carp fishes in the Maeotian oriktocoenoses of Northern Black Sea region, *Proceedings of the Int. Conference, dedicated to the 155-anniversary of P.A. Tutkovsky* (Kyiv, 2013), p. 153.
11. Kovalchuk O.M., Rekovets L.I., Remnants of freshwater fishes (Teleostei) from Miocenian and Pleistocenian sediments of Lysa Gora locality (Zaporizhia region). *Pryrodnychi nauki*, 108 (2012).
12. Kovalchuk O.M., Annotated species list of freshwater fishes (Teleostei) from the Pleistocenian locality Medzhybizh (Khmelnitsky region), *Proceedings of the V Int. Ichthyol. Conf. (Knygy XXI, Tchernivtsi, 2012)*, p. 107.
13. Tarashchuk V.I., Materials of studying of freshwater fishes from Neogenic and Anthropogenic sediments of Ukraine, *Zbirnik prac Zoologichnogo muzeju*, **31**, 3 (1962).
14. Agustí J., Blain H.A., Furió M., De Marfà R., Santos-Cubedo A. The early Pleistocene small vertebrate succession from the Orce region (Guadix – Baza Basin, SE Spain) and its bearing on the human occupation of Europe, *Quat. Int.*, **223-224**, 162 (2010).
15. Böhme M., Neue Funde von Fischen, Amphibien und Reptilien aus dem Mittelpleistocän von Bilzingsleben, *Praehistoria Thuringiaca*, **2**, 96 (1998).
16. Böhme M., Ectothermic vertebrates, climate and environment of the West Runton Freshwater Bed (early Middle Pleistocene, Cromerian), *Quat. Int.*, doi: 10.1016/j.quaint.2010.06.021 (2010).
17. Böttcher R., Niedere Wirbeltiere (Fische, Amphibien, Reptilien) aus dem Quartär von Stuttgart, *Stuttg. Beitr. Naturk., Ser. B. Geol. und Paläontol.*, **215**, 1 (1994).
18. Database of Vertebrates: fossil Fishes, Amphibians, Reptiles and Birds (fosFARbase) localities and taxa from the Triassic to the Neogene. <http://www.wahre-staerke.com>.
19. Gaudant J., Sur la présence de *Leuciscus leuciscus* (L.) (Poisson téléostéen, Cypriniforme) dans le pléistocène de Bobovek, près de Kranj (Slovenia, Yugoslavia), *Slov. Akad., Zn. Umentos Z 228 B, Razprave Dissertationes XXI*, 48 (1978).
20. Pawłowska K., Ichthyofauna łupków interglacjalnych (Masovien I) z Barkowic Mokrych koło Sulejowa, *Acta Palaeontol. Pol.*, **8** (4), 475 (1963).

оступила в редакцию 11.05.2013 г.

УДК 616.993:547.4:595.42](477/41)

ОСОБЛИВОСТІ ІКСОДОФАУНИ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ В ПРИРОДНИХ ОСЕРЕДКАХ ТРАНСМІСИВНИХ ІНФЕКЦІЙ

Комаренко Н.С.

*Державна установа «Київський обласний Лабораторний Центр Держсанепідслужби
України», Київ, Україна
E-mail: yasyacool@yandex.ru*

Стаття присвячена вивченню акаридофауни як складової біоценозів природних осередків трансмісивних кліщових інфекцій на території Київської області. Визначено багаторічну чисельність видів кліщів родини Ixodeaceae – основних векторів і резервуарів трансмісивних природно-осередкових інфекцій в зоні Полісся і Лісостепу. За розрахованими показниками бактеріофорності та вірусофорності встановлено видову приналежність іксодових кліщів, залучених до циркуляції збудників трансмісивних кліщових інфекцій на території Київщини.

Ключові слова: Київська область, іксодові кліщі, трансмісивні інфекції, природні осередки.

ВСТУП

Збудники природно-осередкових трансмісивних кліщових інфекцій належать до різних таксономічних груп: вірусів (вірус кліщового енцефаліту (ВКЕ), Кримсько-Конго геморагічної гарячки та інші арбовіруси), борелій (*Borrelia burgdorferi sensu lato*), коксієл (*Coxiella burnetii*), рикетсій (*Rickettsia helvetica*, *R. conorii*, *R. rickettsia* та інші види), ряду інших бактерій (*Francisella tularensis*, тощо), а також найпростіших (*Babesia microti*). Ці патогенні біологічні агенти (ПБА) мають спільні екологічні характеристики, що обумовлені їх адаптацією до циркуляції посеред певних видів тварин, рептилій, земноводних, які є для них екологічною нішею. Еволюційно сформований трансмісивний механізм передачі за участі розмаїтих членистоногих у багатьох ПБА доповнений іншими способами поширення посеред тварин-резервуарів, що забезпечує вищу стабільність біоценозів, а з того – зростання епізоотичного і епідеміологічного потенціалу природних осередків цих ПБА. Захворюваність на природно осередкові захворювання безперервно зростає [1].

Природні осередки трансмісивних кліщових інфекцій розташовані переважно в лісових ландшафтах помірного кліматичного поясу. Найактивніші з них функціонують в широколистяних, мішано-широколистяних формаціях рослинності [2]. Переносниками інфекцій є паразитоформні членистоногі, з яких основне епідемічне значення мають іксодові, гамазові та аргасові кліщі. Головну небезпеку мають вільноживучі кровосисні іксодиди, які не тільки переносять збудників багатьох інфекційних нозоформ, але й спричиняють виснаження тварин внаслідок крововтрати, алергізації організму та завдання їм постійного занепокоєння.

Специфіка життєвих циклів більшості видів іксодид передбачає зміну хазяїна (двох-та більше видів) в процесі метаморфозу, що у свою чергу зумовлює формування багатокомпонентних паразитарних систем, що власне і визначає їх ключове значення як «універсальних» векторів ПБА поміж різними біологічними видами диких, свійських тварин і людиною [3].

Ландшафти зони Лісостепу Київської області представлені переважно степами та заплавами луками. Зональним типом рослинності лісостепу є широколистяні ліси та лучні степи, які внаслідок значної антропогенної трансформації території займають незначну територію. Рілля становить майже 80 %, ліс – приблизно 5%, лучні степи – 1 %. Лучно-степові угруповання приурочені переважно для крутих схилів балкових систем та ярів, трапляються на схилах стрімких берегів річок, на горбах, курганах, узліссях, галявинах. Лучні угруповання представлені справжніми, остепненими та болотними луками. Зустрічаються псамофітні угруповання, невеликі ділянки боліт, водно-прибережна рослинність річок та озер [4].

Найбільші площі рослинності зони Полісся припадають на грабово-дубові ліси. Чисті дубові ліси, мішані дубово-соснові та соснові ліси розташовані локально [5].

В останні десятиліття відмічається вплив на природні осередки інфекційних захворювань, як на паразитарну екосистему, соціально-економічних (антропогенний вплив людини, активне втручання людини на цілині території, скорочення площі освоєних земельних ділянок) і природних (глобальне потепління клімату, зміни біологічного різноманіття та інших параметрів навколишнього середовища) факторів [6, 7].

Чисельність великої рогатої худоби (ВРХ) та дрібної рогатої худоби (ДРХ) в суспільному та приватному секторах, за даними Державної ветеринарної служби у Київській області, в останні роки підтримується на високому рівні. Випас худоби відбувається на ділянках узлісся, луках, на заплавах річок, в розріджених чагарниках, які є місцями підвищеної концентрації іксодових кліщів. Ці фактори сприяють збереженню чисельності іксодових кліщів, для яких ВРХ є найбільш важливими і доступними годувальниками на стадіях імаго та німф. Тому виникають усі необхідні умови для підтримки природних і змішаних осередків трансмісивних кліщових інфекцій.

Метою нашої роботи було визначення домінуючих, субдомінатних та рідкісних видів іксодових кліщів, які залучені до циркуляції мікроорганізмів – збудників трансмісивних кліщових інфекцій (*B. burgdorferi s.l.*, *F. tularensis*, *C. burnetii*, вірусу кліщового енцефаліту) з урахуванням ландшафтних характеристик Полісся та Лісостепу за визначення показників їх вірусофорності та бактеріофорності.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У роботі використано комплекс методів: систематизації, аналізу, статистичний, ентомологічний і паразитологічний для визначення видового і кількісного складу іксодових кліщів: на ВРХ із розрахунком кількості ектопаразитів на 1 голову; при зборі на прапор із розрахунком на 1 км маршруту.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У Київській області фауна іксодид представлена кліщами трьох видів: *Ixodes ricinus* – європейський лісовий кліщ; *Dermacentor reticulatus* – луковий кліщ; *Dermacentor marginatus* – степовий кліщ. За результатами середньо багаторічних показників у період спостереження – 2001-2011 рр., домінантним видом був *D. reticulatus* з індексом чисельності (ІЧ) в розрахунку на 1 голову ВРХ $2,35 \pm 0,009$; субдомінантним видом є *I. ricinus* – $0,68 \pm 0,002$, а рідкісним – *D. marginatus* – $0,43 \pm 0,001$.

Всі три види кліщів мають велике епідемічне значення як вектори збудників трансмісивних природно-осередкових інфекцій. Зокрема, поширення збудника Ку-гарячки пов'язують з кліщами *I. ricinus* та *D. reticulatus*; збудників ВКЕ та туляремії – з *I. ricinus*, *D. reticulatus* та *D. marginatus*. Для збереження життєдіяльності збудників ІКБ найважливішим є *I. ricinus*, але й не виключено залучення у процес кліщів *Dermacentor* spp.

У зоні Полісся середньо багаторічний ІЧ *D. reticulatus* становив $3,72 \pm 0,02$ на 1 голову ВРХ, тоді як аналогічні показники чисельності для кліщів видів *I. ricinus* і *D. marginatus* були майже на одному рівні – $0,43 \pm 0,0004$ і $0,46 \pm 0,0004$ ($p > 0,05$). У зоні Лісостепу ектопаразити зняті з ВРХ, за розрахованими середньо багаторічними ІЧ розподілились наступним чином: домінуючим видом встановлено *D. reticulatus* – $1,90 \pm 0,008$; субдомінантним – *I. ricinus* – $0,84 \pm 0,002$, а рідкісним – *D. marginatus* – $0,42 \pm 0,001$ (Рис. 1).

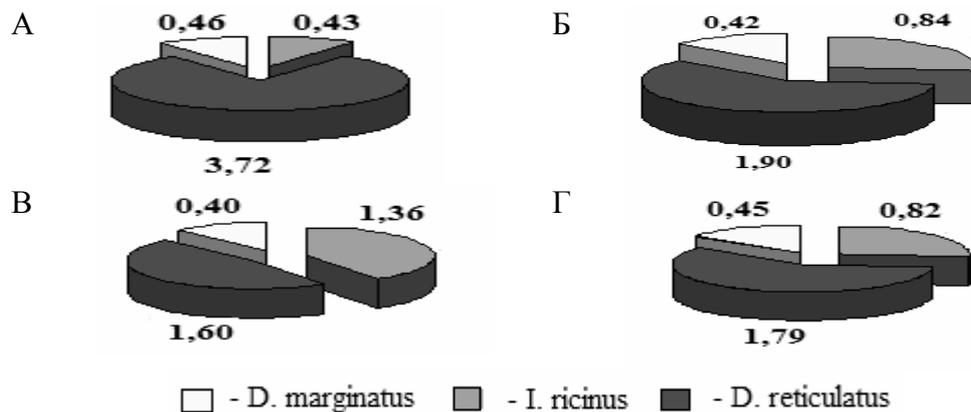


Рис. 1. Видовий розподіл іксодових кліщів, зібраних із ВРХ з 2001 по 2011 роки в ландшафтно-географічних зонах Київської області, за даними середньобагаторічних індексів чисельності: А. – Полісся; Б. – Лісостеп; В. – правий берег зони Лісостепу; Г. – лівий берег зони Лісостепу.

У зоні Полісся за період спостережень було визначено два піки чисельності кліщів *D. reticulatus*, які припадали на 2006 і 2010 роки. Найвищий ІЧ кліщів даного виду було встановлено в 2006 р. – $12,21 \pm 0,15$ на 1 голову ВРХ, дещо нижчі показники – у 2005 р. ($5,64 \pm 0,044$) та 2010 р. ($5,17 \pm 0,06$), тоді як динаміка найагресивнішого з кліщів – *I. ricinus*, суттєво різнилася. Найвищий ІЧ кліщів

виявлено у 2001 р., а станом на 2011 р. зазначений показник зменшився до $0,03 \pm 0,001$ (у 27 раз). Одночасно, у 2001 р. спостерігалась мінімальна чисельність екзопаразитів виду *D. marginatus* – $0,02 \pm 0,0002$, але у 2011 р. індекс чисельності зріс в 27 раз і становив $0,56 \pm 0,002$. Узагальнені результати багаторічної динаміки кількісних змін популяцій іксодид представлені на рис. 2.

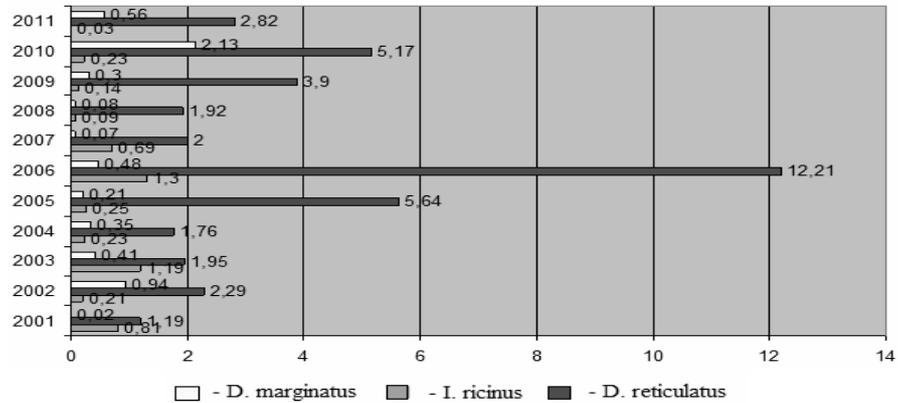


Рис. 2. Показники чисельності іксодових кліщів зібраних з великої рогатої худоби в зоні Полісся Київської області в 2001-2011 рр.

У зоні Лісостепу найвищий показник чисельності *D. reticulatus* визначено у 2005 році ($6,31 \pm 0,049$), що співпало з максимумом іншого виду – *I. ricinus* ($1,57 \pm 0,007$), і в цілому було обумовлено високою вологістю та помірними температурними параметрами літнього періоду. Максимальна заселеність ВРХ екзопаразитами виду *D. marginatus* спостерігалась у 2010 році, при цьому, ІЧ сягнув $2,09 \pm 0,012$, тоді як в інші роки він не перевищував $0,84 \pm 0,002$. Цей рік був також сприятливим для зростання кількісних показників популяції *D. reticulatus*. Виражена депресія виду *I. ricinus* припала на 2003 р. – $0,4 \pm 0,0004$. Отже, як видно з рис. 3, циклічність кількості кліщів різного виду мала суттєві відмінності.

Домінантним видом на правому та лівому узбережжях зони Лісостепу виявився *D. reticulatus* зі середньо багаторічними ІЧ $1,60 \pm 0,013$ та $1,79 \pm 0,017$, відповідно. Субдомінантний видом як на правому, так і лівому берегах Лісостепу був *I. ricinus*, про що свідчили середньо багаторічні індекси чисельності – $1,36 \pm 0,022$ і $0,82 \pm 0,01$; а рідкісним видом – *D. marginatus* з ІЧ – $0,40 \pm 0,003$ і $0,45 \pm 0,006$.

ОСОБЛИВОСТІ ІКСОДОФАУНИ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ В ПРИРОДНИХ...

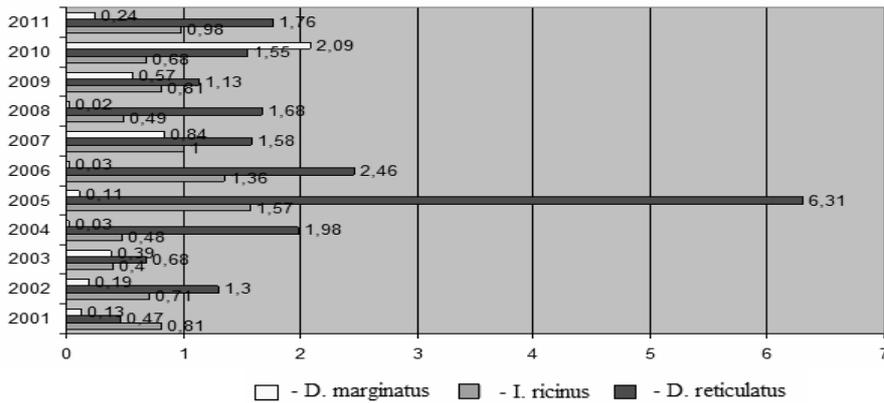


Рис. 3. Показники чисельності іксодових кліщів зібраних з великої рогатої худоби в зоні Лісостепу Київської області в 2001-2011 рр.

При обліку іксодових кліщів у зоні Полісся на прапор в останні 9 років переважали кліщі *D. reticulatus*, а середній багаторічний ІЧ на 1 км маршруту становив $5,32 \pm 0,34$. Індеси чисельності кліщів *I. ricinus* і *D. marginatus* становили $0,74 \pm 0,065$ і $0,3 \pm 0,03$, відповідно. У зоні Лісостепу при зборі кліщів в природі переважали екзопаразити *I. ricinus* – $2,73 \pm 0,09$, а індекс чисельності для кліщів *D. reticulatus* і *D. marginatus* склав – $2,2 \pm 0,08$ і $1,92 \pm 0,07$, відповідно (Рис. 4).

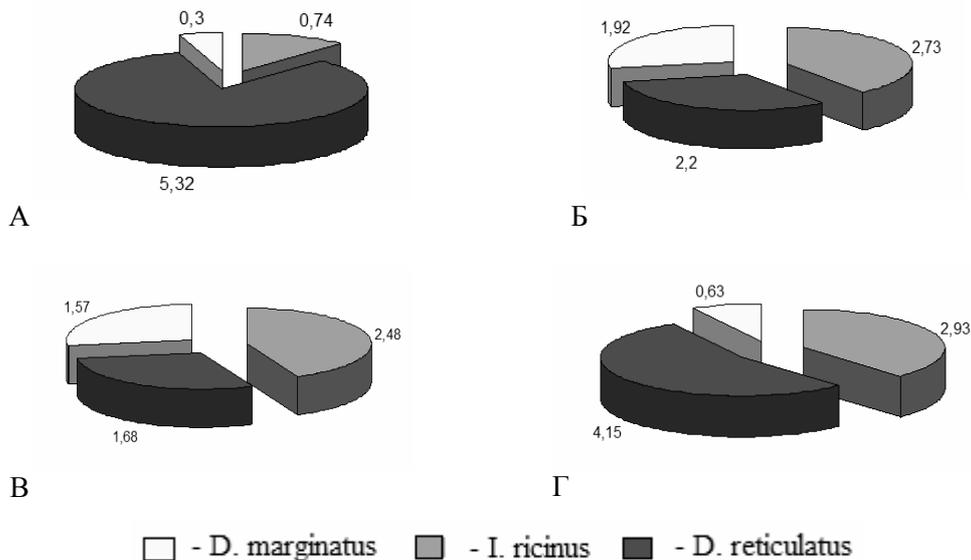


Рис. 4. Видовий розподіл іксодових кліщів, зібраних на прапор з 2001 по 2011 роки в ландшафтно-географічних зонах Київської області, за даними середніх багаторічних індексів чисельності: А. – в зоні Полісся; Б. – в зоні Лісостепу; В. – на правому березі зони Лісостепу; Г. – на лівому березі зони Лісостепу.

При багаторічному вивченні поширення іксодових кліщів в природі в зоні Полісся шляхом збору на прапор, найвища чисельність кліщів *I. ricinus* спостерігалась у 2002 р. (ПЧ – 14,67 екземплярів на 1 км маршруту). Від 2003 по 2011 рр. на обстежених маршрутах щороку переважали кліщі *D. reticulatus*, як видно із даних, представлених на рис. 5.

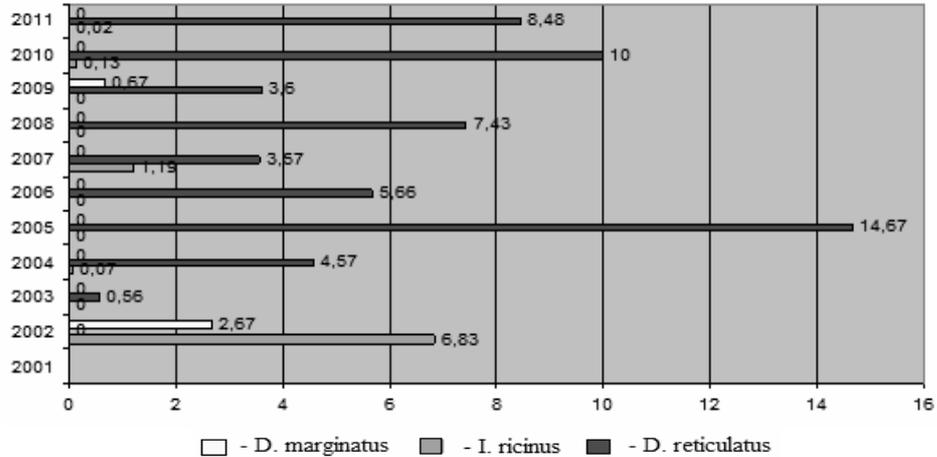


Рис.5. Показники чисельності іксодових кліщів, зібраних на прапор в зоні Полісся Київської області в 2001-2011 рр.

У зоні Лісостепу при зборі кліщів в природі у 2003-2004 рр. переважав степовий вид – *D. marginatus*. У період 2005-2009 рр. кліщі зазначеного виду зникли з маршрутних ліній і з'явилися знов у незначній кількості лише у 2010 р. У зборах кліщів в зоні Полісся переважали екзопаразити *I. ricinus* і *D. reticulatus* (рис. 6).

За період 2009-2012 рр. зібрано з ВРХ 5510 екз. іксодових кліщів, зокрема: *D. reticulatus* – 3068 екз. ($55,68 \pm 0,52$ %); *I. ricinus* – 1663 екз. ($30,18 \pm 0,24$ %); *D. marginatus* – 799 екз. ($14,50 \pm 0,09$ %). При зборах кліщів на прапор відловлено 2907 екзопаразитів, у тому числі: *D. reticulatus* – 2166 екз. ($74,50 \pm 1,09$ %); *I. ricinus* – 557 екз. ($19,16 \pm 0,21$ %); *D. marginatus* – 184 екз. ($6,32 \pm 0,04$ %). Усі перераховані види кліщів мають різний спектр тварин-годувальників, відмінні екологічні та ландшафтні характеристики, що визначає їх поширення в межах конкретних ареалів. Зокрема, *I. ricinus* переважають у лісах Європи, *D. reticulatus* – заселяють луки, а *D. marginatus* – степи.

У зборах кліщів, проведених на прапор, в лісових, польових, вологих стаціях та луках фоновим видом був *D. reticulatus*, зі середнім показником виявлення по області у $74,5 \pm 0,94$. Цей показник для даного виду був найвищим у лісосмугах ($55,61 \pm 0,73$), тоді як в луках він становив $14,03 \pm 0,12$, в полях – $3,9 \pm 0,02$, а у вологих стаціях – $2,63 \pm 0,01$.

Другим за поширеністю видом був *I. ricinus* зі середнім показником по області у $19,16 \pm 0,18$. Розподіл *I. ricinus* із врахуванням характеристик стацій кліщів був наступним: в лісових стаціях – $54,39 \pm 1,64$ % від усієї кількості зібраних на прапор

кліщів даного виду, у вологих стаціях – $25,13 \pm 0,62$ %, луках – $18,49 \pm 0,41$ %, у полях – $1,97 \pm 0,02$ %.

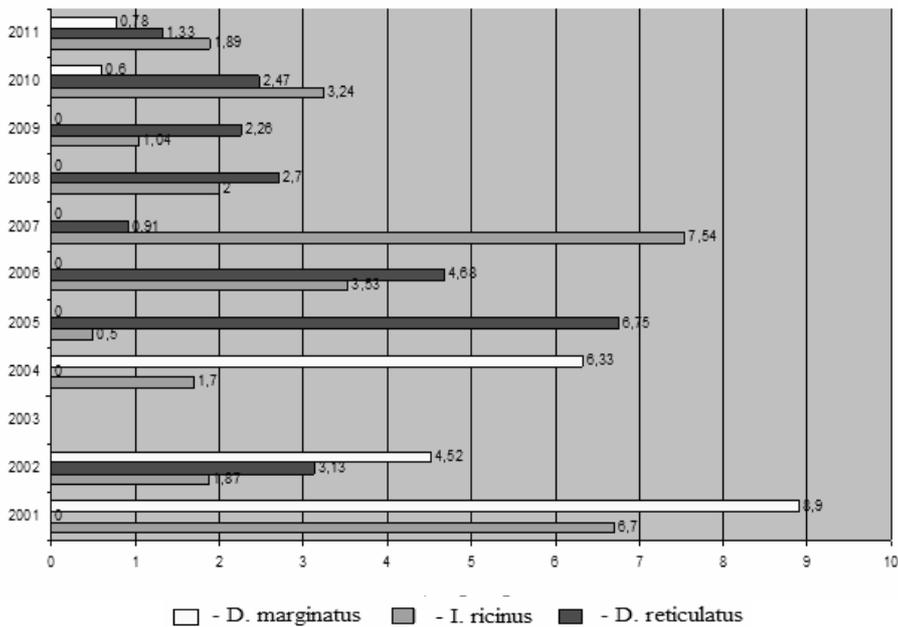


Рис.6. Показники чисельності іксодових кліщів, зібраних на прапор в зоні Лісостепу Київської області в 2001-2011 рр.

Показник виявлення виду *D. marginatus* по області становив $6,32 \pm 0,04$. Найбільші показники виявлення *D. marginatus* спостерігалась під час збору кліщів на прапор на полях – $41,84 \pm 2,16$ % та луках – $40,21 \pm 2,05$ %, тоді як у лісових стаціях – лише $17,93 \pm 0,7$ %, а у вологих стаціях *D. marginatus* не зустрічались. При цьому, в зоні Полісся екзопаразити зазначеного виду зустрічались лише в луках.

При зборах кліщів з ВРХ у період 2009-2012 рр. встановлено, що екзопаразити *D. reticulatus* мали найвищі показники в луках – $51,92 \pm 0,65$ % та лісових стаціях – $34,94 \pm 0,4$ %. Відповідні показники в польових стаціях становили $12,45 \pm 0,1$ %, а у вологих – $0,68 \pm 0,001$ %. Кліщі *I. ricinus* переважали в лісосмугах – $69,75 \pm 1,19$ %, рідше зустрічались в луках – $22,73 \pm 0,31$ %, у вологих стаціях – $7,63 \pm 0,07$ %, та епізодично на полях – $0,18 \pm 0,003$ %. Екзопаразити *D. marginatus* найбільше визначали при випасах худоби в луках – $56,9 \pm 1,43$ % та біля лісу – $34,16 \pm 0,77$ %, на полях – $9,63 \pm 0,13$ %. При огляді ВРХ, що випасались у вологих стаціях (в заплавах річок), кліщі *D. marginatus* не були виявлені.

ВИСНОВКИ

1. Фоновим видом іксодових кліщів на території Київської області в усіх ландшафтно-географічних зонах у період 2001-2011 років був *Dermacentor reticulatus*. Субдомінантним видом виявився *Ixodes ricinus*, а рідкісним –

Dermacentor marginatus. Усі три види за даними багаторічних досліджень були ефективними переносниками збудників трансмісивних кліщових інфекцій у природних осередках на Київщині.

2. У зоні Полісся спостерігалась тенденція до підвищення чисельності кліщів *Dermacentor marginatus*, що, ймовірно, було наслідком зміни кліматичних умов у регіоні та антропогенного впливу на екосистеми.
3. Збереженню високої чисельності кліщів сприяли кліматичні умови Київщини та видове розмаїття годувальників як у природних, так і змішаних осередках трансмісивних кліщових інфекцій.

Список літератури

1. Кучерук В.В. 50 лет учению о природной очаговости болезней человека // Мед. паразитология и паразитарные болезни. - 1989. - № 6. - С. 3-4.
2. Методические рекомендации «Иксодовые клещевые боррелиозы у детей и взрослых» / Под ред. акад. РАМН Лобзина Ю.В. // С.-Пб. – 2010. - 50 с.
3. Наконечний І.В. Збудники природно-осередкових інфекцій в екосистемах півдня України / Наконечний І.В., Серебряков В.В. – К.: Тофи Киме – 2012. – 226 с.
4. Гриценко В.В. Лучні степи Київського плато: флора, рослинність, популяції рідкісних видів та охорона: Автореф. дис. ...канд. біол. н. – Київ. – 2007. – 20 с.
5. Чехній В.М. Порівняльний аналіз сезонних станів ландшафтів Київського Полісся та середнього Побужжя: Автореф. дис. ...канд. геогр. н. – Київ. – 2003. – 23 с.
6. Виноград Н.А. Эпидемиологические аспекты природно-очаговых зооантропонозов на западе Украины / Виноград Н.А., Козак Л.П., Василишин З.П. // Журнал инфектологии. – 2012. - т. 4, № 3. - С. 33.
7. Виноград Н.А. Проблеми діагностики і контролю поєднаних бактеріально-паразитарних трансмісивних захворювань / Виноград Н.А., Василишин З.П., Козак Л.П., Скальська Н.І. // Актуальні питання організації лабораторного бактеріологічного контролю та медичної паразитології: нарада-семінар, Іллічівськ, 12-13 вересня 2012. – Іллічівськ, 2012. - С. 84 -85.

Комаренко Н.С. Особенности иксодофауны Киевской области в природных очагах трансмиссивных инфекций / Н.С. Комаренко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С.59-66.

Статья посвящена изучению природных очагов трансмиссивных клещевых инфекций на территории Киевской области. Определена многолетняя численность видов клещей семейства Ixodeaceae – основных векторов и резервуаров трансмиссивных природно-очаговых инфекций в зонах Полесья и Лесостепи. По рассчитанным показателям бактериофонности и вирусофорности установлена видовая принадлежность иксодовых клещей, вовлеченных в циркуляцию возбудителей трансмиссивных клещевых инфекций на территории Киевской области.

Ключевые слова: Киевская область, иксодовые клещи, трансмиссивные клещевые инфекции, природные очаги.

Komarenko N.S. Features of ixodesfauna of the Kyiv region in the natural foci of transmissible infections / N.S. Komarenko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 59-66.

The article is devoted to the study of natural foci of vector-borne infections in the Kyiv region. Lasting many years of species numbers of Ixodeaceae family ticks as primary vectors and reservoirs of transmissible vector-borne infections in zone of Polissya and Forest-Steppe was determined. By calculated indicators of bacteriofornity and virusofornity was detected of set specific membership of Ixodeaceae ticks that involved into circulation of the agents of tick-borne transmissible infections on Kyiv region territory.

Keywords: Kyiv region, Ixodeaceae ticks, transmissible infection, natural foci.

Поступила в редакцию 26.04.2013 г.

УДК 577.151:54-38

ВПЛИВ НАВАНТАЖЕННЯ МАРГАНЦЕМ НА ВМІСТ МАКРОЕЛЕМЕНТІВ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

Коновалова О.О., Гончаренко О.В.

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, Харків, Україна
E-mail: valeolog@univer.kharkov.ua*

Створено реальну модель дослідження механізму розвитку марганцевого мікроелементозу на основі застосування підгострих доз хлориду марганцю, виходячи з ЛД₅₀. Методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії показано, що навантаження марганцем призводять до перерозподілу макроелементів в організмі щурів: збільшується вміст кальцію в нирках, кістках і серці та зменшується – в печінці та скелетних м'язах; концентрація магнію у кістках селезінці, скелетних м'язах, печінці зменшується, що відбивається на співвідношенні Ca/Mg. Введення сиропу «Валеотон» на фоні токсичної дози хлориду марганцю призводить до достовірного збільшення вмісту магнію в кістках, скелетних м'язах, печінці та зменшує зсуви вмісту кальцію, що свідчить про захисну роль сиропу «Валеотон» на процес марганцевої інтоксикації.

Ключевые слова: фітосироп, марганець, макроелементи.

ВСТУП

За результатами численних досліджень мінеральні речовини, в тому числі марганець, грають важливу роль у процесах адаптації, росту, диференціювання, репарації і регенерації, апоптозу, некрозу, виживаності клітин, а також в патогенезі хронічних запальних і дегенеративних захворювань. За результатами наших попередніх досліджень елементного складу певних компонентів оточуючого середовища витікає, що марганець є одним із провідних чинників антропоєкологічного навантаження в таких регіонах України, як міста Суми, Запоріжжя, Харків і Харківська обл., Івано-Франківська обл [1, 2] Так у воді Харківського регіону рівень марганцю на порядок перевищує припустимі межі. Оскільки надмірні концентрації важких металів через здатність викликати біологічні ефекти є одним з видів техногенного навантаження в умовах антропогенного забруднення навколишнього середовища, а мікроелементний статус людини напряму залежить від несприятливого екологічного стану довкілля та вживання до їжі продуктів з критичним вмістом токсичних речовин, то вивчення їх впливу на живі організми є одним з найбільш пріоритетним напрямів досліджень.

Дослідниками Харківської валеологічної школи також було показано, що розроблений співробітниками кафедри валеології та міжгалузевої науково-дослідної валеологічної лабораторії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна фітосироп «Валеотон» має збалансований мінеральний склад та завдяки наявності органічних кислот та пектинів може оптимізувати мінеральний обмін в

організмі. [3, 4 ,5]. Так, за результатами обстеження школярів з м. Києва [6] отримано дані, що у дітей молодшого шкільного віку після прийому сиропу «Валеотон» відбулося статистично значуще підвищення вмісту кальцію при зниженні вмісту магнію і наближенні до оптимальних значень співвідношення Ca/Mg у слині. Курсовий прийом сиропу «Валеотон» мешканцями регіонів з різним складом переважаючих забруднювачів довкілля (м. Київ та Харків) показав, що дія сиропу спрямована саме на ті ланки мінерального обміну, які порушені у даному регіоні (у харків'ян знижується вміст свинцю, у киян – нікелю, крім того, нормалізується співвідношення в конкурентних парах кальцій/магній, цинк/нікель, цинк/мідь).

У мешканців сільської місцевості, де забруднення довкілля є меншим, ніж у місті, дія сиропу у напрямку корекції вмісту основних біоелементів відповідає ступеню забруднення.

Дія сиропу на мінеральний статус школярів є тривалою, що вказує на те, що механізм дії сиропу пов'язаний не лише з вмістом у його складі певних мінеральних речовин, а й з наявністю біологічно активних речовин, що корегують обмін речовин у напрямку нормалізації.

Зв'язок роботи з важливими науковими програмами та практичними завданнями. Робота виконувалась в межах НДР 4-10-12. «Розробка моделі інтегральної оцінки впливу важких металів на живі системи» (№ держреєстрації 0111U010553)

У зв'язку з тим, що робіт по вивченню впливу надлишкових концентрацій Mn на організм людини недостатньо, сьогодні є актуальним експериментальне дослідження впливу високих доз хлориду марганцю на активність метаболічних процесів у організмі на реальних моделях, зокрема експериментальних тваринах.

Метою дослідження було вивчення впливу хлориду Mn у дозі, що відповідає ЛД₅₀, а також фітосиропу «Валеотон» на перерозподіл макроелементів Ca та Mg в органах та тканині піддослідних щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

З метою дослідження механізмів дії таких оздоровчих технологій, як оптимізація харчування за допомогою фітокоректорів, розроблених лабораторією в попередні роки. необхідним було моделювання на піддослідних тваринах впливу деяких негативних екологічних факторів, характерних для східних регіонів України, а також вживання шкідливих для здоров'я продуктів харчування. Це дає змогу визначити ті ланки обміну речовин, які страждають за цих умов. Крім того, за умов знаходження піддослідних тварин в стані негативного екологічного або аліментарного навантаження, такі моделі надають змогу здійснити корекцію цих порушень метаболізму за допомогою оздоровчих продуктів харчування з рослинної сировини, розроблених лабораторією, та виявити, на які метаболічні процеси вони впливають.

Нашими попередніми дослідженнями [1, 7] виявлено, що серед переважаючих забруднювачів питної води, перелік яких коливається в межах різних населених пунктів і навіть районів одного міста, найчастіше зустрічається марганець.

Виходячи з цього, моделлю дослідження впливу негативних екологічних чинників та їх корекції введенням сиропу було обрано навантаження марганцем. В доступній нам літературі не виявлено відомостей щодо наявності стандартних моделей для оцінки впливу свинцю та марганцю на метаболізм. Існують переважно моделі розповсюджених захворювань, що були створені для перевірки ефективності лікарських препаратів, окремих фізіологічних станів, наприклад, гіпокінезії чи стресу.

Докладну характеристику моделям, що використовуються при дослідженнях впливу ксенобіотиків на живі організми, надано у роботі [8]. Зокрема, всі існуючі моделі автором поділені на 4 класи:

- 1) модель дозових залежностей реакцій у альтернативній формі;
- 2) модель переносу та метаболізму ксенобіотиків;
- 3) модель адаптації до повторних хімічних впливів;
- 4) інтегральна реакція організму на рівні впливу, близького до порогового.

Всі класи моделей різняться за токсикологічною та математичною структурою, проте відображають загальну тенденцію до розмежування станів фізіологічної адаптації та компенсованої патології з позицій цілісного організму.

Конструктивною основою діагностичної шкали станів слугують класичні моделі дозових залежностей за окремими кількісними показниками (біохімічними, фізіологічними тощо), що враховуються у притаманній їм градуйованій формі. Цим одночасно забезпечується підвищення надійності традиційних оцінок порогів (Lim_{oc}) та хронічного (Lim_{xp}) для речовин. Особливість діагностичного підходу полягає в тому, що реакція цілісного організму повинна розумітися як індивідуальна реакція конкретної особи (індивідуума), а вже потім як дозозалежна реакція, типова для групи особин (популяції), на підвищення реакцій розвитку токсичного процесу, тоді значення порогових та підпорогових доз відповідають задовільній та незадовільній адаптації.

В ряді робіт [9] досліджувані речовини вводилися у вигляді водного розчину внутрішньошлунково, що не дає змоги з достатнім ступенем точності оцінити кількість речовини, що засвоїлася, окрім того, додається додатковий стрес через уведення речовини у шлунок. За моделі отримування токсикантів з питною водою при груповому утриманні до організму різних тварин може потрапити різна кількість ксенобіотику. В разі ж поодинокого утримання додається додатковий чинник, пов'язаний з незвичним місцем утримання.

Виходячи з цілей нашого експерименту, нами було розроблено як модель негативного екологічного навантаження, що являє собою повторний вплив підгострих доз (виходячи з LD_{50}), що надавала змогу оцінити інтегральну реакцію організму на рівні впливу, близького до порогового (4 клас моделей за класифікацією Штабського). Було взято дві групи білих шурів-самців лінії Вістар, віком 3 місяці. Добір тварин для побудови моделей викликаний [10, 11, 12] необхідністю враховувати фізіологічні та біохімічні особливості організму піддослідних тварин, а також характер дії досліджуваних ксенобіотиків. Перша група була інтактною. Другій групі щоденно внутрішньом'язово вводили розчин солі $MnCl_2$ з еквівалентною кількістю марганцю 50 мг на 1 кг маси тіла щура. Доза

марганцю, що застосовувалася в експерименті, була токсичною для щурів, та розраховувалась, виходячи з відомої з літератури ЛД₅₀ (13) Третій групі вводили внутрішньом'язово розчин солі марганцю (MnCl₂) у дозі 50 мг/кг та перорально через зонд вводили 0,5 мл сиропу «Валеотон». Сироп «Валеотон» – це фітосироп, який включає екстракт з 27 трав, які мають дозвіл МЗ України на використання на використовування в харчовій промисловості [4]. Експеримент тривав протягом 8 діб, після чого проводилась декапітація під легким ефірним наркозом.

Вміст макро- і мікроелементів визначали методом атомно-абсорбційної фотометрії на спектрофотометрі СП-115-М1 з використанням ламп із порожнім катодом (тип ЛПК). Отримані результати обробляли за допомогою програм Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати вмісту макроелементів після моделювання марганцевої інтоксикації наведені в таблиці 1.

Таблиця 1.

Вміст кальцію та магнію в органах та такнинах щурів за умов навантаження марганцем та введення фітосиропу

Органи / Група	Контроль	MnCl ₂	MnCl ₂ + «Валеотон»
Кальцій, мкг/г			
нирки	20,25 ± 0,84	27,98 ± 3,52*	14,29 ± 0,57*+
кістка	3035,1 ± 19,0	3504,0 ± 37,1*	2906,7 ± 16,0*+
селезінка	52,75 ± 1,41	49,29 ± 5,41	43,76 ± 2,93*
м'язи	31,32 ± 1,0	12,81 ± 1,32*	52,96 ± 2,19*+
печінка	41,16 ± 2,80	24,64 ± 0,75 *	37,03 ± 0,85+
серце	72,29 ± 2,11	85,9 ± 2,47*	65,54 ± 2,31*+
Магній, мкг/г			
нирки	23,09 ± 0,95	24,63 ± 0,41	21,39 ± 1,06+
кістка	581,3 ± 8,1	528,6 ± 4,89*	668,9 ± 5,82*+
селезінка	37,53 ± 0,99	34,51 ± 0,52*	33,91 ± 2,86
м'язи	45,11 ± 1,52	25,68 ± 0,76*	87,04 ± 4,11*+
печінка	33,6 ± 1,21	22,81 ± 0,53*	27,37 ± 0,82*+
серце	47,97 ± 1,05	49,5 ± 2,31	27,31 ± 2,09*+
Ca/Mg			
нирки	0,87	1,16	0,66
кістка	5,22	6,62	4,34
селезінка	1,41	1,44	1,29
м'язи	0,69	0,49	0,61
печінка	1,22	1,08	1,35
серце	1,51	1,73	2,39

Примітки: * – значимість розходжень з інтактною групою на рівні 0,05;

+ – значимість розходжень з MnCl₂ на рівні 0,05

Згідно з отриманими даними навантаження Mn призводять до перерозподілу макроелементів в організмі щурів. Перш за все, збільшується вміст кальцію в нирках, кістках і серці. В печінці та скелетних м'язах його кількість зменшується (табл. 1). Інша реакція спостерігається щодо перерозподілу магнію. Так навантаження Mn призводить до достовірного зменшення Mg кістках селезінці, скелетних м'язах, печінці (табл. 1). Як бачимо, марганцева інтоксикація обумовлює перерозподіл основних мікроелементів Ca та Mg, що відбивається на співвідношенні Ca/Mg.

Макроелементи розподіляються в різних органах і тканинах різним чином. Понад усе багаті Ca кістки. Далі за вмістом цього елемента знаходиться серце. При марганцевому навантаженні вміст Ca в цих органах ще збільшується, а вміст Mg зменшується, що приводить до збільшення коефіцієнту Ca/Mg.

Виходить, що в таких органах, як нирки, кістки, селезінка, серце Ca і Mn-виступають як синергісти. А магній, згідно отриманих даних, за вмістом його в кістках, селезінці, м'язах, печінці, виступає антагоністом Mn. У м'язах і печінці вміст Ca у щурів з марганцевим навантаженням зменшується, тобто ми спостерігаємо різноспрямований перерозподіл Ca в органах щурів під дією марганцевого навантаження.

Слід особливо відзначити, що виявлений органо-тканинний перерозподіл не є обов'язковим. Головним є те, що мікроелемент Mn викликає перерозподіл макроелементів Ca і Mg.

Введення сиропу «Валеотон» на фоні токсичної дози хлориду марганцю призводить до достовірного збільшення вмісту магнію в кістках, скелетних м'язах, печінці (табл. 1) та зменшує зсуви вмісту кальцію, що спостерігалися за умов марганцевої інтоксикації практично у всіх досліджуваних органах та тканинах (табл. 1). Одержані результати свідчать про захисну роль сиропу «Валеотон» на процес марганцевої інтоксикації.

Кальцій і магній відіграють суттєву роль в організмі, оскільки велика кількість ферментів та ферментних систем є чутливими до змін концентрацій цих елементів [14]

Так, кальцій – це мікроелемент, який грає важливу роль у функціонуванні скелетних м'язів, міокарду, нервової системи, шкіри та особливо кісткової тканини. Достатня присутність активного пулу кальцію реалізується у активізації процесів м'язового скорочення. Надлишок Ca в організмі може приводити до дефіциту цинку та фосфору. На рівні клітин Ca виконує інформаційну функцію.

Магній є основним внутріклітинним елементом. Як стверджує А. Скальний [15], в організмі людини максимальний рівень магнію знаходиться у смугастих м'язах, серці, головному мозку. Магній входить до складу або впливає на активність більш ніж 3000 ферментів. Він активує ферменти, які регулюють вуглеводний обмін, процеси синтезу та вивільнення енергії АТФ, регулює трансмембранну циркуляцію іонів. Нестача Mg призводить до розвитку хвороб серцево-судинної системи, гіпертонічних хвороб, судорог у дітей. Дефіцит Mg трапляється у людей з емоціональним стресом.

Відповідно до літературних даних [16], магній грає важливу роль у клітинних обмінних процесах. Він входить до складу активного центру багатьох ферментів, наприклад, супероксиддисмутази. При хронічній інтоксикації марганцем характерними є астигматичні стани: втома, сонливість, зниження активності, порушення пам'яті, зміна тону м'язів, та сухожильних рефлексів.

Таким чином, за результатами даної роботи встановлено, що навантаження Mn у дозі відповідній LD₅₀, викликає перерозподіл мікроелементів, що виражається в достовірному збільшенні Ca і зниженні концентрації Mg у різних органах і тканинах щурів.

У цілому, одержані результати експериментального дослідження дозволяють гадати, що за високих доз марганець, займаючи позиції Ca та Mg в органічних і неорганічних сполуках, утворює біохімічні структури, які здатні індукувати руйнування обмінних процесів.

Дисбаланс названих мікроелементів, викликаний введенням токсичної концентрації марганцю, може бути одним з особливих чинників зрушення метаболічних процесів, що викликає порушення функціонування всіх органів і тканин та всього організму в цілому.

Виявлені в даному експериментальному дослідженні залежності впливу підвищеної концентрації Mn у середовищі на перерозподіл макроелементів в організмі тварин є підставою для припущення про можливість здійснення метаболічних порушень в організмі людини у випадку підвищення його вмісту в біологічних рідинах організму людини.

В цьому випадку особливу увагу необхідно приділити контролю вмісту Mn в біологічно-активних добавках (БАВ), вітамінних комплексах, що приймаються людиною на власний розсуд, та які, як правило, в своєму складі містять добову дозу мікроелементу Mn, тобто підсилюють марганцеву інтоксикацію.

Такий висновок обумовлений тривогою про стан здоров'я школярів і всіх, хто проживає в регіоні з підвищеним вмістом Mn в середовищі і через це – зі зміненим його вмістом в слині.

ВИСНОВКИ

1. Створено реальну модель дослідження механізму розвитку марганцевого мікроелементозу на основі застосування підгострих доз хлориду марганцю.
2. Навантаження марганцем призводять до перерозподілу макроелементів в організмі щурів: збільшується вміст кальцію в нирках, кістках і серці та зменшується – в печінці та скелетних м'язах ; концентрація магнію у кістках селезінці, скелетних м'язах, печінці зменшується, що відбивається на співвідношенні Ca/Mg.
3. Введення сиропу «Валеотон» на фоні токсичної дози хлориду марганцю призводить до достовірного збільшення вмісту магнію в кістках, скелетних м'язах, печінці та зменшує зсуви вмісту кальцію, що свідчить про захисну роль сиропу «Валеотон» на процес марганцевої інтоксикації.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У ДАНОМУ НАПРЯМКУ

Таким чином, отримані результати показали, що надлишок марганцю призводить до перерозподілу вмісту мінеральних речовин, зокрема, кальцію та магнію, в органах та тканинах. Доведено, що сироп на рослинній основі «Валеотон» дозволяє ліквідувати дисбаланс макроелементів, що спостерігається після навантаження великими дозами марганцю, зокрема таких, як кальцій та магній. Вивчення механізму розвитку мікроелементозів на реальних моделях є перспективним напрямком дослідження, зокрема цікавим є моделювання хронічного навантаження невеликими дозами ксенобіотиків.

Список літератури

1. Гончаренко М. С. Состояние минерального обмена у детей из различных экологических районов и пути его коррекции / М. С. Гончаренко, Е. О. Коновалова, Н. В. Кобзарь, А. В. Гончаренко, Н. Н. Светлакова, В. А. Лебедев // Экология и здоровье человека. Охрана водного и воздушного бассейнов. Утилизация отходов: Сборник научных трудов XI Междун. научно-технич. конф. – Бердянск, 9-13 июня. – 2003. – Т 2. – С. 328-335.
2. Гончаренко М.С. Вплив екологічних чинників на стан мінерального обміну у школярів міст Запоріжжя і Харків та шляхи його корекції / Гончаренко М.С., Коновалова О.О., Гончаренко О.В., Світлакова Н.М. // Людина та навколишнє середовище — проблеми безперервної екологічної освіти в вузах // Збірник наукових праць. — Одеса, 21-24 вересня 2004. — с. 107 - 109.
3. Гончаренко М.С. Фітооздоровлення дітей та молоді: Рекомендації щодо раціонального харчування і використання харчових добавок для дітей та молоді за умов несприятливого екологічного оточення. / Гончаренко М.С., Гончаренко О.В. – Харків, 2001. — 75 с.
4. Декларац. патент України №37554А, заявл.05.11.1999, заявка № 99116083, кл. МПК А23Л1/09. Спосіб приготування сиропу „Валеотон” /М. С. Гончаренко, І. Е. Шмараєва, О. В. Гончаренко, К. П. Лемешко / заявн.; Гончаренко М.С.; Опубл. 15.05.2001; Бюл. № 4,
5. Konovalova O. Health-Improving Nourishment as a method of strengthening the health of participants of the educational process. / O. Konovalova, N. Samoilo, O. Poluboiarov, I. Tsymbalov. // School and health for the 219. General Issues in Health Education. –Brno, 2009.– P.147-154.
6. Гончаренко М.С. Динаміка мінерального статусу дітей з екологічно забруднених регіонів після оздоровлення продуктами харчування спеціального призначення. / М.С. Гончаренко, О.О. Коновалова, Г.П. Андрейко, О.В. Гончаренко // Природничий альманах. Біологічні науки. / Збірник наукових праць / Херсон, ПП Вишемирський, 2011.– вип.. 15. – С. 33-42.
7. Коновалова О.О. Вивчення впливу екологічних чинників на мікроелементний обмін у дітей шкільного віку та застосування фітокоректору для його нормалізації / О.О. Коновалова, Н.М. Світлакова // Біологія та валеологія. Збірник наукових праць. – Харків, ХНПУ. – 2005. – Вип.. 7 – С. 154-161
8. Штабский Б.М. Модели в токсикологии / Б.М. Штабский // Вестник АМН СССР. – 1991. – №Dhtlyst2. – С. 12—16.
9. Русаков Н.В. Оценка степени опасности химических веществ, загрязняющих почву, при воздействии на организм экспериментальных животных / Н.В. Русаков, Л.Х. Мухамбетова // Гигиена и санитария. – 2007. – №2. – С. 68-69.
10. Красовский Г.Н. Видовая, половая и возрастная чувствительность к ядам / Г.Н. Красовский, Г.Г. Авилова // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. – 1974. – Т. 19, №2. – С. 159-164
11. Зоренко Т.А. Характеристика возрастных и половых особенностей лабораторных животных / Т.А. Зоренко // Лабораторные животные. – 1992. – Т.2, №1. – С. 41-53.
12. Трахтенберг И.М. Проблема нормы в токсикологии / под. ред. И.М. Трахтенберга. / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко– М.: Медицина, 1991. – 208 с.

13. Западнюк И.П. Лабораторные животные. / Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. – К.: Вища школа, 1983. – 388 с.
14. Дереча Л.М. Макро- і мікроелементи: сучасні уявлення про їх функціональне значення в теплокровному організмі / Л.М. Дереча, В.В. Мясоєдов // Експериментальна і клінічна медицина. – 2007. – №4. – С. 21-27.
15. Скальный А.В. Биоэлементы в медицине / А.В. Скальный, И.А. Рудаков. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004 – 272 с..
16. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. / Скальный А.В. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. – 216 с.

Коновалова Е.О. Влияние нагрузки марганцем на содержание макроэлементов в органах крыс / Е.О. Коновалова, А.В. Гончаренко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С.67-74.

Создана реальная модель исследования механизма развития марганцевого микроэлементоза на основе использования подострых доз хлорида марганца, исходя из ЛД₅₀. Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии показано, что нагрузка марганцем приводит к перераспределению макроэлементов в организме крыс: увеличивается содержание кальция в почках, костях и сердце и уменьшается – в печени и скелетных мышцах.; концентрация магния в костях, селезенке, скелетных мышцах, печени уменьшается, что отражается на соотношении Ca/Mg. Введение сиропа «Валеотон» на фоне токсичной дозы хлорида марганца приводит к достоверному увеличению содержания магния в костях, скелетных мышцах, печени и уменьшает сдвиги содержания кальция, что свидетельствует о защитной роли сиропа «Валеотон» на процесс марганцевой интоксикации.

Ключевые слова: фитосироп, марганец, макроэлементы.

Konovalova O.O. Effect of load of manganese on the content of microelements in the organs of rats// O.O. Konovalova, O.V. Goncharenko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 67-74.

An actual model of the research on the mechanism of manganese microelementoses through the use of subacute doses of manganese chloride on the basis of the DL₅₀ created/ By atomic absorption spectrophotometry showed that the load manganese leads to a redistribution of macroelements in rats. Level of calcium in the kidneys, bones and heart increases, and in the liver and skeletal muscle – decreases. The concentration of magnesium in the bones, spleen, skeletal muscle, liver decreases. This is reflected in the ratio of Ca / Mg. Introduction syrup "Valeoton" against toxic doses of manganese chloride results in a significant increase in magnesium content in bones, skeletal muscle, liver, and reduces the changes of calcium content. This demonstrates the protective role of syrup "Valeoton" in the process of manganese intoxication.

Keywords: phytosyrup, manganese, macroelements.

Поступила в редакцию 16.04.2013 г.

УДК 612.014.42:591.58:599.323.4

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС

Костюк А.С., Ярмолюк Н.С., Туманянц К.Н., Лебедев А.В.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: alexkostyuk@mail.ru*

Длительное электромагнитное экранирование изменяет поведенческие реакции крыс, проявляющиеся возрастанием времени пассивного плавания и снижением активного в тесте Порсолта, возрастанием уровня депрессивности.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, пассивное плавание, активное плавание, депрессивность, тест Порсолта.

ВВЕДЕНИЕ

Под влиянием различных факторов окружающей среды, в том числе и электромагнитной природы, находятся все живые организмы на Земле. В последние годы, существующие источники электромагнитной природы дополнились различными полями искусственного происхождения, в частности, электромагнитным экранированием (ЭМЭ). Эксперименты с ЭМЭ представляют также значительный практический интерес. При постоянно растущем технологическом процессе людям определенных профессий приходится проводить значительное время в условиях электромагнитной изоляции различного уровня (подземные производства, экранированные технологические циклы и др.) В таких условиях определенные слои населения оказываются в ситуациях ослабленного или сглаженного электромагнитного излучения. Кроме того, в последние годы увеличивается частота встречаемости стрессовых расстройств, которые обусловлены нарастанием количества насилий, терроризма и катастроф. В связи с этим, актуальными являются исследования эмоциональных расстройств, которые приводят к тревожным, агрессивным и депрессивным состояниям объекта, сопровождаемых растущим уровнем заболеваний. Депрессия представляет собой широко распространенное многофакторное расстройство ЦНС, которое характеризуется сниженным настроением, утратой интереса к получению удовольствия, снижением энергии и низкой самооценкой [1–3]. Патогенез депрессии недостаточно изучен и активно исследуется в настоящее время у человека и животных [4]. Тест принудительного плавания Порсолта используется для обнаружения в поведении крыс признаков депрессивности [5]. Поэтому целью данной работы явилось изучение влияния электромагнитного экранирования на поведенческие реакции крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на 20 белых беспородных крысах-самцах массой 190 ± 10 г. Животных содержали при естественном освещении и максимальной стандартизации температурного режима. Кормление и уход осуществляли в привычном для животных режиме вивария. Обеспечивался свободный доступ крыс к пище и воде.

Животных делили на две группы по 10 особей в каждой. Первую группу содержали в обычных условиях вивария (контроль, К). Во вторую группу (ЭМЭ) вошли животные, которых в течение 10 дней помещали в экранированную камеру на время с 17:00 до 9:00 часов утра следующих суток, учитывая, что крысы - животные с ночной активностью. Продолжительность эксперимента составила 10 суток.

Уровень депрессивности животных определяли в тесте Порсолта («вынужденного плавания», ВП) [6]. Этот тест предусматривает оценку двигательной активности крыс, помещенных в металлический цилиндр диаметром 50 см и высотой 60 см, на 1/3 заполненный водой с температурой 25 ± 1 °С, таким образом, чтобы животное не имело возможности опереться задними конечностями или хвостом о дно цилиндра. Животное помещают в цилиндр на 3 мин, в течение которых регистрируют время активного (энергичные гребковые движения всеми конечностями) и пассивного (слабые гребки) плавания, а также латентный период (ЛП) «зависания». Для оценки уровня депрессивного состояния животного рассчитывался индекс депрессивности (ИД):

$$\text{ИД} = t_{\text{пас}} / t_{\text{акт}};$$

где $t_{\text{пас}}$ – время пассивного плавания, $t_{\text{акт}}$ – время активного плавания.

Ослабление электромагнитного поля достигалось применением экранирующей камеры, изготовленной из железа «Динамо». Коэффициент экранирования постоянной компоненты магнитного поля (МП), составлял по вертикальной составляющей 4,4, по горизонтальной – 20. Коэффициент экранирования внутри камеры для частот от 10–4 до 30 Гц находится в пределах трех-четырёх, на промышленной частоте 50 Гц и кратных гармониках 150 и 250 Гц – около трех. На более высоких частотах имела место лишь тенденция к ослаблению [7].

Проверка полученных данных на закон нормального распределения позволила применить параметрический метод в статистической обработке и анализе материала исследования. Вычисляли среднее значение исследуемых величин и ошибку средней. Оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью t-критерия Стьюдента. За достоверную принимали разность средних при $p < 0,05$. Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Statistica и Microsoft Excel [8, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что у контрольной и экспериментальной групп животных уровень депрессивности отличен. Так, характеризуя активное плавание крыс обеих групп, можно отметить, что в течение

10 суток эксперимента уровень активного плавания животных, подвергнутых влиянию ЭМЭ значительно снижался, чем в контрольной группе животных. На четвертые-пятые сутки наблюдения значение показателя снижается на 20% ($p < 0,05$) относительно контроля, достигая при этом максимальных различий. В последующие сутки эксперимента снижение отмечено на 13-16% ($p < 0,05$) (рис. 1).

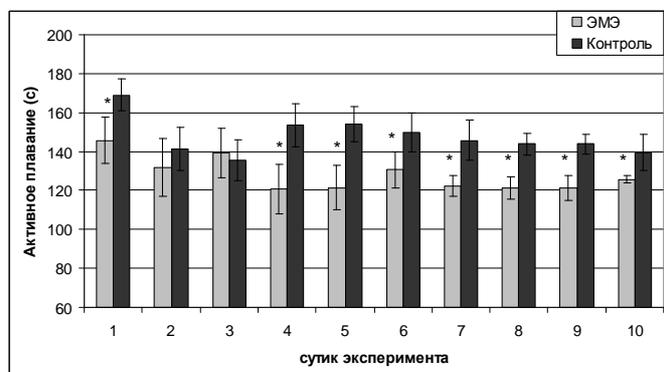


Рис. 1. Уровень активного плавания (с) животных контрольной группы и крыс, содержащихся в условиях ЭМЭ.

Примечание: * – достоверность отличий относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$

При этом изменение пассивного плавания прямо противоположно изменениям активного. Так, в течение 10 суток наблюдения отмечен рост уровня пассивного плавания в группе животных, содержащихся в условиях ЭМЭ, относительно контрольной группы. Начиная с четвертых-пятых суток отмечено повышение показателя на 22-23% ($p < 0,05$) соответственно, относительно контроля. Кроме того, на протяжении всего эксперимента уровень пассивного плавания экспериментальных животных был выше такого в контрольной группе на 14-17% ($p < 0,05$) (рис. 2).

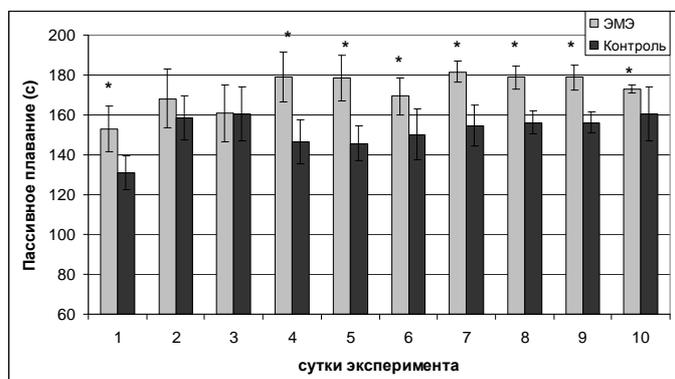


Рис. 2. Уровень пассивного плавания (с) животных контрольной группы и крыс, содержащихся в условиях ЭМЭ.

Примечание: * – достоверность отличий относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$

Показателем депрессивности в тесте Порсолта является увеличение отношения пассивного к активному плаванию животных, что и характеризует ИД. Так, в контрольной группе ИД находится в пределах нормы, а именно около 0,98 усл.ед. Тогда как ИД у животных, содержащихся в условиях ЭМЭ, значительно возрастает относительно контрольных значений, а соответственно в большей степени отклоняется от нормы. Начиная с первых суток эксперимента, ИД у животных экспериментальной группы растет от $1,24 \pm 0,15$ усл.ед., достигая максимального значения на четвертые сутки наблюдения – $1,63 \pm 0,17$ усл.ед. В последующие дни эксперимента уровень ИД снижается незначительно, при этом оставаясь за пределами нормы, что достоверно выше значений в контрольной группе животных. Начиная с шестых суток наблюдения, ИД растет от $1,04 \pm 0,08$ усл.ед. до $1,20 \pm 0,10$ усл.ед. на десятые сутки, что на 43% ($p < 0,05$) и 34% ($p < 0,05$) выше, чем контроля (рис. 3).

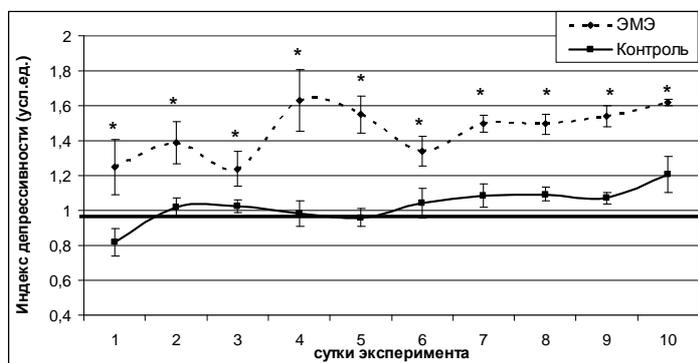


Рис. 3. Индекс депрессивности контрольных животных и животных, содержащихся в условиях ЭМЭ, определяемый в Тесте Порсолта

Горизонтальной жирной линией обозначена норма, для которой индекс депрессивности составляет 0,98 усл.ед.

Примечание: * – достоверность отличий относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$

Характеризуя ЛП «зависания», следует отметить, что на протяжении десяти суток эксперимента отмечены достоверные изменения изучаемого показателя в исследуемых группах. Так, уже на вторые сутки эксперимента в группе животных, находящихся в условиях ЭМЭ, ЛП составил $31,8 \pm 2,6$ с, что \approx на 26% ($p < 0,05$) ниже контрольных значений. На четвертые и пятые сутки эксперимента уровень ЛП при действии ЭМЭ также снижается на \approx 35% ($p < 0,05$) и 25% ($p < 0,05$) соответственно. Следовательно, снижение уровня ЛП «зависания» в группе животных, подвергнутых влиянию ЭМЭ, относительно значений контрольной группы, также свидетельствует о том, что в условиях экспериментального воздействия повышается уровень депрессивного состояния животных (рис. 4).

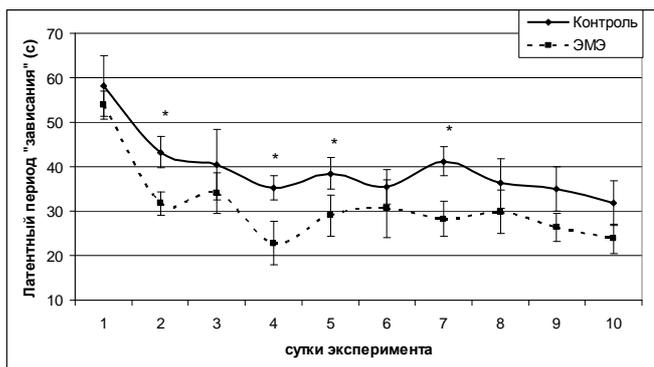


Рис. 4. Латентный период «зависания» контрольных животных и животных, содержащихся в условиях ЭМЭ, определяемый в Тесте Порсолта.

Примечание: * – достоверность отличий относительно контрольной группы: * – $p < 0,05$

В ходе эксперимента нами было отмечено, что у крыс, содержащихся в условиях ЭМЭ, было снижено количество ныряний и прыжков в воде, нежели в контрольной группе животных, что также является характерным признаком депрессивности.

Таким образом, полученные нами данные значительно расширяют представления о влиянии ЭМЭ на позвоночных животных. Так, зарубежными авторами в опытах с белыми мышами (время экспозиции в камере из мю-металла составляло несколько месяцев) была отмечена пониженная активность и аномалии поведения, чаще развивался опухолевый процесс и патологические проявления в функциях печени, почек и половых желез. Это вело к преждевременной смертности [10]. Аналогичные, но не столь выраженные изменения описаны также отечественными авторами [11]. В экспериментах, на кроликах, родившихся под экраном и пролонгированных в этих условиях до одного месяца жизни, также описаны дистрофические изменения со стороны печени и, кроме того, глубокие дисфункциональные нарушения эндокринных органов и миокарда. Соответственно возрос показатель летальности [12].

Пшеничная А.Г. с соавтр. (2010), исследуя крыс с различной функциональной асимметрией, выявили, что острая психическая травма у самок крыс приводит к снижению двигательной активности, исследовательской деятельности, подавлению коммуникативности и повышению уровня тревожности, что свидетельствует о развитии депрессивноподобного состояния. Одновременно повышается уровень агрессивности. Поведенческие признаки депрессивноподобных состояний у самок крыс более выражено проявляются у левшей, что говорит о том, что левши в большей мере подвержены влиянию психической травмы [13]. В лаборатории электромагнитной физиологии и биофизики Таврического национального университета им. В.И. Вернадского выявлено, что ЭМЭ угнетает половую мотивацию крыс как одного компонента полового поведения животных, вызывая при этом функциональный сдвиг адаптационных систем, что указывает на развитие тормозных процессов со стороны ЦНС [14]. Кроме того, выявлено, что слабое ЭМЭ

приводит к увеличению межвидовой агрессивности у крыс, причем более выраженной у самцов, чем у самок [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что ЭМЭ изменяет поведенческие реакции крыс, вызывая при этом повышение уровня депрессивности, что может привести к расстройствам нервной системы, увеличению агрессии и тревожности животных. Дальнейшее изучение биологической активности ослабленного геомагнитного поля позволит расширить представления о его влиянии на поведение животных.

Список литературы

1. Калуев А.В. Принципы экспериментального моделирования тревожно-депрессивного поведения / А.В. Калуев // *Нейронауки*. – 2006. – №1. – С. 34-56.
2. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene / A. Caspi., K. Sudgen, T.E. Moffitt // *Science*. – 2003. – Vol. 301. – P. 386-389.
3. Cryan J.F. In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice / J.F. Cryan, C. Mombereau // *Mol. Psychiatry*. – 2004. – Vol. 9. – P. 326-357.
4. Rupniak N.M.J. Animal models of depression: challenges from a drug development perspective / N.M.J. Rupniak // *Behav. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 14. – P. 385-390.
5. Айрапетянц М.Г. Коррекция поведенческих и физиологических показателей невротоподобного состояния белых крыс введением янтарной кислоты / М.Г. Айрапетянц, И.П. Левшина, Л.В. Ноздрачева, Н.Н. Шуйкин // *Журн. Внд.* — 2001. — Т. 51, №3. — С. 360–367.
6. Porsolt R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M.L. Pinchon // *Nature*. – 1977. – № 266. – P. 730–732.
7. Метод получения крайне слабых постоянного магнитного и электрического полей и хорошо воспроизводимого комбинированного магнитного поля для биологических исследований / Н.И. Богатина, Н.В. Шейкина, В.С. Мартынюк [и др.] // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология. Химия»*. – 2010. – Т.23, №2. – С. 125
8. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. – К.: Модмон, 2000. – 319 с.
9. Боровиков В. *Statistica. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов*. 2-е изд. / Боровиков В. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
10. Halpern M.H. Very low magnetic fields: biological effects and their implication for space exploration / M.H. Halpern, H.H. Van-duce // *Aerospace Med. Assoc. 37-th Ann. Sci. Meet. Las-Vegas (Nevada)*. – 1996. – P.281-288.
11. Реакция организма на воздействие «нулевого» магнитного поля / З.Н. Нахильницкая, В.М. Машуркова, Л.А. Адрианова и др. // *Космическая биологическая медицина*. – 1978. – 12, №2.- С. 74-81.
12. Копанов В.И. О биологическом действии на организм гипомагнитной среды / В.И. Копанов, Г.Д. Ефименко, А.В. Шакула // *Изв. АН СССР. Сер. Биол.* - 1979. - №3. – С. 342-354.
13. Пшеничная А.Г. Депрессия поведения после острой психической травмы у самок крыс с различной моторной преференцией / А.Г. Пшеничная, Г.В. Безнин, А.Г. Кусов, С.Г. Цикунов // *Всерос. конф. «Современные направления исследований функциональной межполушарной асимметрии и пластичности мозга»*, Москва, 2–3 декабря 2010 г.). : Мат-лы конф. – 2010. – С. 126-129
14. Ярмолук Н.С. Влияние слабого электромагнитного экранирования на половую мотивацию крыс / Н.С. Ярмолук, К.Н. Туманянц, И.О. Маларова // *Материалы XLII научной конференции профессорско-преподавательского состава, аспирантов и студентов «Дни науки ТНУ им. В.И. Вернадского»*. – Симферополь: ДИАИПИ, 2013. – С. 60-61.

15. Костюк А.С. Слабое электромагнитное экранирование увеличивает межвидовую агрессию / А.С. Костюк, М.О. Малярова, Е.В. Чуян // Материалы XLII научной конференции профессорско-преподавательского состава, аспирантов и студентов «Дни науки ТНУ им. В.И. Вернадского». – Симферополь: ДИАЙПИ, 2013. – С. 38-40.

Костюк О.С. Вплив тривалого електромагнітне екранування на поведінкові реакції щурів / О.С. Костюк, Н.С. Ярмолюк, К.Н. Туманянц, О.В. Лебедєв // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 75-81.

Тривале електромагнітне екранування змінює поведінкові реакції щурів, які проявляються зростанням часу пасивного плавання і зниженням активного в тесті Порсолта, зростанням рівня депресивності.

Ключові слова: електромагнітне екранування, пасивне плавання, активне плавання, депресивність, тест Порсолта.

Kostyuk A.S. Long-term effects of electromagnetic screening for behavioral response of rats / A.S. Kostyuk, N.S. Yarmolyuk, K.N. Tumanants, A.V. Lebedev // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 75-81.

Long-term electromagnetic shielding alters the behavioral responses of rats, manifested increasing time passive navigation and reduced activity in the Porsolt test, an increase in the level of depression.

Keywords: electromagnetic shielding, passive swimming, actively swimming, dpressivnost, Porsolt test.

Поступила в редакцію 28.04.2013 з.

УДК 581.14:635.9:581.522.4(477.60)

РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ РОДА *AQUILEGIA* L. В УСЛОВИЯХ СТЕПНОЙ ЗОНЫ УКРАИНЫ

Крохмаль И.И.

*Донецкий ботанический сад НАН Украины, Донецк, Украина
E-mail: donetsk-sad@mail.ru*

Изучены репродуктивные особенности видов рода *Aquilegia* L. в условиях степной зоны Украины. Выявлены диагностические признаки, сроки и продолжительность возрастных состояний. Генеративный период наступает на второй год жизни растений. В виргинильном возрастном состоянии у *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* var. *oxycepala*, *A. olympica* корневая система смешанная, у остальных исследованных видов: *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. saximontana*, *A. vulgaris* главный корень отмирает, корневая система кистекорневая. В молодом генеративном состоянии у *A. chrysantha* отмечено боковое ветвление, у *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. olympica*, *A. buergeriana* var. *oxycepala* – отмирание главного корня, корневая система этих видов кистекорневая. Высокие процент плодоцветения, коэффициент семенификации и реальная семенная продуктивность характерны для лесных и субальпийских видов рода *Aquilegia*. У субальпийских видов возрастает коэффициент семенификации при уменьшении солнечной радиации в июне в местах их естественного произрастания. В регионе интродукции у высокогорных лесных видов из более теплых и влажных мест семенная продуктивность, процент плодоцветения выше, коэффициент семенификации ниже. Выявлено, что в степной зоне Украины показатели семенной продуктивности выше у видов из более холодных мест произрастания.

Ключевые слова: виды рода *Aquilegia* L., интродукция, степная зона Украины, онтогенез, семенная продуктивность.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение репродуктивных особенностей декоративных травянистых многолетников мировой флоры в новых условиях произрастания, в том числе видов и сортов рода *Aquilegia* L., позволяет выяснить уровень их адаптации, устойчивость и продолжительность существования в культуре, обосновать научные основы выращивания и размножения для включения в ассортимент растений для зеленого строительства в степной зоне Украины. Известно 60-70 видов, произрастающих в Северном полушарии, из них 35 введено в культуру. Разнообразие рода *Aquilegia* – это результат двух независимых путей эволюции: первый включает в себя азиатские и североамериканские виды, второй – азиатские и европейские виды [1]. Предполагают, что предок двух линий произрастал в горах юга Центральной Сибири. Род возник 6,18-6,57 миллионов лет назад. Эволюция евразийской линии видов рода *Aquilegia* была связана с изменением среды обитания, в то время как азиатско-североамериканской – с разнообразием опылителей. Аллопатрическое видообразование рода преобладает в Европе, симпатрическое – в Северной Америке. Виды *Aquilegia olympica*, *A. oxycepala*, *A. sibirica*, *A. nigricans* (леса, луга),

A. atrata, *A. vulgaris* (леса, луга, каменистые почвы, скалы) в местах естественного произрастания опыляются пчелами и шмелями. Североамериканские виды: *A. canadensis* (леса, луга, каменистые почвы, скалы) и *A. skinneri* (леса) опыляются калибри, *A. chrysantha* (степи) – бражниками. В степной зоне Украины при семенном размножении *A. canadensis* и *A. skinneri* расщепления не дают, в отличие от всех других исследованных видов, что связано по нашему мнению с отсутствием необходимых опылителей и невозможностью перекрестного опыления. В семенном потомстве *A. chrysantha* наблюдается небольшое расщепление. Работы по изучению видов рода *Aquilegia* касаются в основном репродуктивной изоляции видов [2], генеративной и вегетативной изменчивости таксонов в контактных зонах [3], генетического разнообразия видов и культиваров [4]. С использованием сканирующего электронного микроскопа проведено сравнительное изучение онтогенеза цветка таксонов в трибе *Isopyreae* семейства *Ranunculaceae* (*Aquilegia olympica*, *A. ecalcarata*, *Semiaquilegia adoxoides*, *Enemion occidentale*) [5]. Выявлены некоторые условия выращивания промышленных сортов рода *Aquilegia* в теплице: 1) при ночной температуре 9–13 °С растения вступают в фазу цветения через 4–5 месяцев после посева семян; 2) повышение температуры до 16–19 °С индуцирует раннее цветение по сравнению с температурой больше 24 °С; 3) вернализация семян при 4 °С незначительно способствует раннему зацветанию; 4) удлинение фотопериода до 14 часов на ранних фазах роста задерживает цветение растений [6]. В настоящее время в коллекции Донецкого ботанического сада насчитывается 20 видов, 3 разновидности, 2 сорта рода *Aquilegia*. Исследований репродуктивных особенностей видов рода *Aquilegia* в условиях интродукции не проводилось. Цель работы – выявление особенностей онтогенеза и семенной продуктивности видов рода *Aquilegia* в условиях степной зоны Украины, поиск связи показателей семенной продуктивности видов в регионе интродукции с климатическими характеристиками мест их природного произрастания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены репродуктивные особенности видов рода *Aquilegia* в условиях степной зоны Украины. Материал онтогенетических исследований – 7 видов, 1 разновидность, 2 сорта рода *Aquilegia*: *A. buergeriana* var. *oxysepala* (Trautv. & C.A. Mey.) Kitam., *A. olympica* Boiss., *A. einseleana* F.W. Schultz, *A. pyrenaica* DC., *A. chrysantha* A. Gray, *A. alpina* L., *A. vulgaris* L., *A. saximontana* Rydb., *A. vulgaris* `Nora Barlow`, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`. Онтогенез видов изучен согласно методике И.П. Игнатьевой [7]. Использована классификация возрастных состояний Т.А. Работнова [8] с дополнениями А.А. Уранова [9]. Терминология периодов онтогенеза и возрастных состояний особей приведена согласно «Ценопопуляции растений» [10], морфологическая терминология – в соответствии с атласами по описательной морфологии высших растений [11, 12]. По способности к вегетативному размножению в условиях региона интродукции виды классифицировали согласно М.Т. Мазуренко, А.П. Хохрякову [13]. Изучена семенная продуктивность 16 видов 1 разновидности рода *Aquilegia*: *A. oxysepala* var. *kansuensis* Brune, *A. buergeriana* Sieb. et Zucc., *A. aurea* Janka, *A. nigricans* Baumg., *A. pyrenaica* DC., *A. flabellata* Sieb. et

Zucc., *A. canadensis* L., *A. skinneri* Hook., *A. chrysantha* A. Gray, *A. atrata* W.D.J. Koch, *A. saximontana* Rydb., *A. alpina* L., *A. einseleana* F.W. Schultz, *A. sibirica* Lam., *A. olympica* Boiss. При изучении семенной продуктивности использовали общепринятые методики Т.А. Работнова [14], И.В. Вайнагия [15], В.И. Некрасова [16], а также “Методические рекомендации по семеноведению интродуцентов” [17]. Климатические характеристики мест естественного произрастания видов рода *Aquilegia* приведены согласно Агроклиматическому атласу мира [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучен онтогенез 7 видов, 1 разновидности, 2 сортов рода *Aquilegia* L. (рис. 1-4).

Проростки. Появление всходов у видов *A. einseleana*, *A. vulgaris* `Nora Barlow`, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` отмечено на 20-й день после высева семян, у *A. chrysantha*, *A. alpina*, *A. pyrenaica* – на 22-й день, у *A. vulgaris*, *A. saximontana*, *A. buergeriana* var. *oxycsepala*, *A. olympica* – 30-й день. Семядоли овальной формы, размер 4,0 мм x 9,0 мм. Эпикотиль укороченный, длина гипокотилия 1,0 – 2,0 см. Главный корешок ветвится до 1-го порядка. Появление настоящего листа у *A. einseleana*, *A. vulgaris* `Nora Barlow` отмечено через 14 дней после появления всходов, *A. chrysantha*, *A. alpina*, *A. pyrenaica* – 12 дней, *A. buergeriana* var. *oxycsepala*, *A. olympica*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` – 10 дней, *A. vulgaris*, *A. saximontana* – 5 дней.

Ювенильное возрастное состояние наступает через 2 – 2,5 месяца после появления всходов. Высота растений варьирует в пределах 3,6 см (*A. vulgaris*) – 7,4 см (*A. olympica*). Количество листьев в розетке 3–5 штук. Длина тройчатосложного листа находится в пределах от 1,6 см (*A. pyrenaica*) до 2,7 см (*A. buergeriana* var. *oxycsepala*), ширина – от 1,5 см (*A. vulgaris*) до 2,9 см (*A. buergeriana* var. *oxycsepala*).

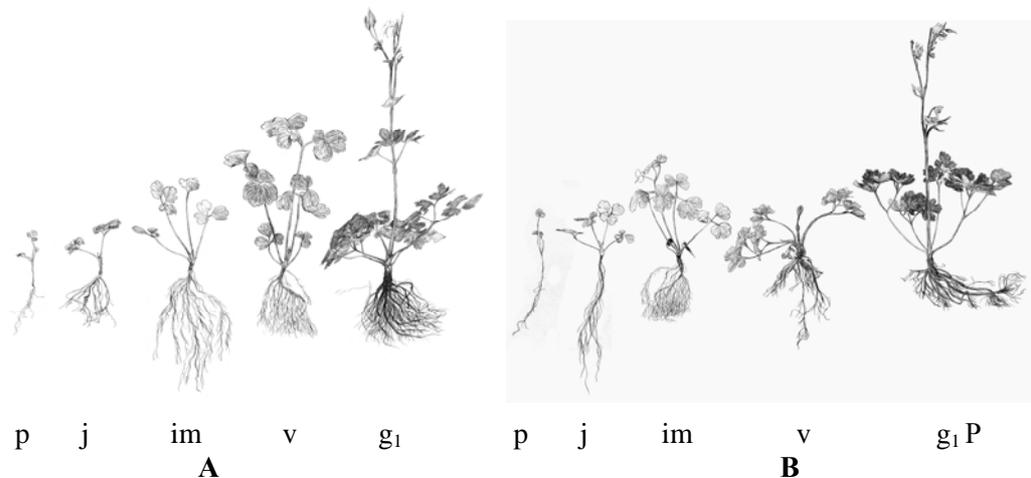


Рис. 1. Онтогенез *Aquilegia buergeriana* var. *oxycsepala* (Trautv. & С.А. Мей.) Kitam. (А), *A. olympica* Boiss. (В) в условиях степной зоны Украины: р – проросток, j – ювенильное, im – имматурное, v – виргинильное возрастное состояние, р – v – прегенеративный период, g₁ – генеративный период (молодое генеративное растение)

Длина черешка листа растений варьирует от 2,5 см (*A. vulgaris*) до 5,4 см (*A. olympica*). Размер листочка сложного листа 0,8–1,1 см x 1,0–1,2 см. Главный корень у всех исследованных видов, разновидностей и сортов рода *Aquilegia* ветвится до 3-го порядка, исключение составляет *A. vulgaris*, у которого главный корень ветвится до 2-го порядка. Семядоли сохраняются. Длина главного корня варьирует от 6,2 см (*A. chrysantha*) до 9,6 см (*A. alpina*). Длина гипокотилия 1,5–1,7 см. Количество боковых корней 5 (*A. pyrenaica*) – 9 штук (*A. alpina*), длина их 3,1–5,2 см.



Рис. 2. Онтогенез *Aquilegia einseleana* F.W. Schultz (A), *A. pyrenaica* DC. (B): j – ювенильное, im – имматурное, v – виргинильное возрастное состояние, g₁ – генеративный период (молодое генеративное растение)

Имматурное возрастное состояние у большинства исследованных видов наступает через 3 – 3,5 месяца после появления всходов, исключение составляет *A. vulgaris*, у которого имматурное возрастное состояние наступает через 4 месяца. Высота растений варьирует в пределах 4,2 см (*A. vulgaris*) – 9,3 см (*A. chrysantha*). Количество листьев в розетке составляет 6–8 штук. Лист тройчатосложный, у большинства видов листочки сложного листа тройчато-лопастные, у *A. chrysantha* и *A. saximontana* тройчато-рассеченные. Большие размеры сложного листа, его сегментов, черешка листа характерны для *A. chrysantha*, малые – для *A. vulgaris*. Длина листа составляет 1,5–3,9 см, ширина – 1,5–4,3 см, длина черешка листа – 1,5–6,3 см. Корневая система смешанного типа, светло-желто-коричневой окраски. Главный корень развит у всех исследованных видов. Наименьшая длина корневой системы отмечена у *A. chrysantha* – 8,5 см, наибольшая у *A. saximontana* – 11,0 см и *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` – 12,5 см. Гипокотиль утолщен. Длина гипокотилия варьирует от 1,1 см (*A. pyrenaica*, *A. vulgaris* `Nora Barlow`) до 1,4 (*A. saximontana*, *A. buergeriana* var. *oxycerpala*) и 2,0 см (*A. hybrida* `Agnenata Zvezda`, *A. buergeriana* var. *oxycerpala*). На гипокотиле образуются придаточные корни в количестве 4 (*A.*

alpina) – 6 штук (*A. hybrida* `Agnenata Zvezda`, *A. buergeriana* var. *oxycephala*). У большинства исследованных видов главный и придаточные корни ветвятся до 4-го порядка, исключение составляют *A. alpina*, *A. saximontana*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` – корневая система ветвится до 3-го порядка. Длина придаточных корней достигает 5,9 см (*A. chrysantha*) – 10,5 см (*A. saximontana*) и 15,0 см (*A. buergeriana* var. *oxycephala*). Больше количество боковых корней на главном корне (11 шт.) отмечено у *A. vulgaris*, меньше – у *A. chrysantha* (7 шт.). Длина боковых корней варьирует в пределах 4,7-13,5 см. Продолжительность имматурного возрастного состояния составляет 5 месяцев.

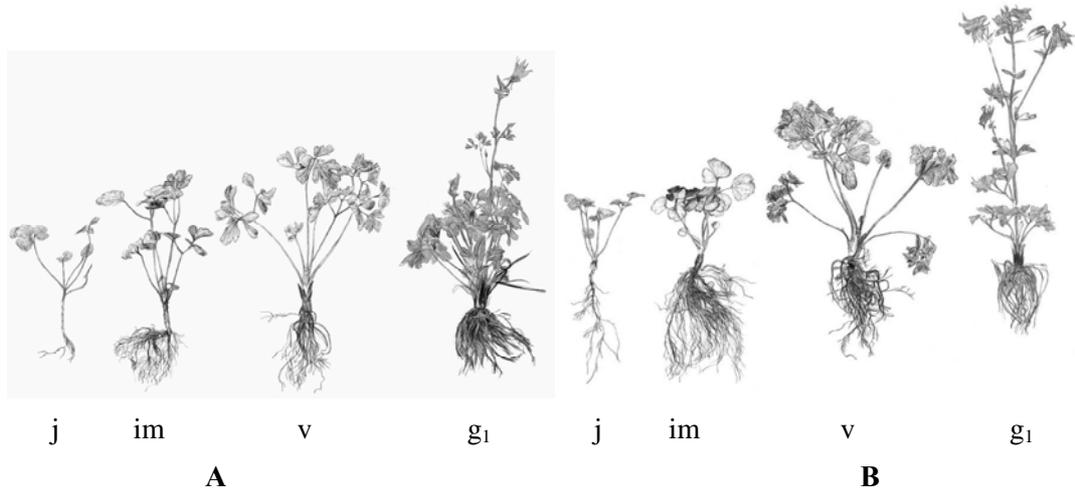


Рис. 3. Онтогенез *Aquilegia chrysantha* A. Gray (A), *A. alpina* L. (B): j – ювенильное, im – имматурное, v – виргинильное возрастное состояние, g₁ – генеративный период (молодое генеративное растение)

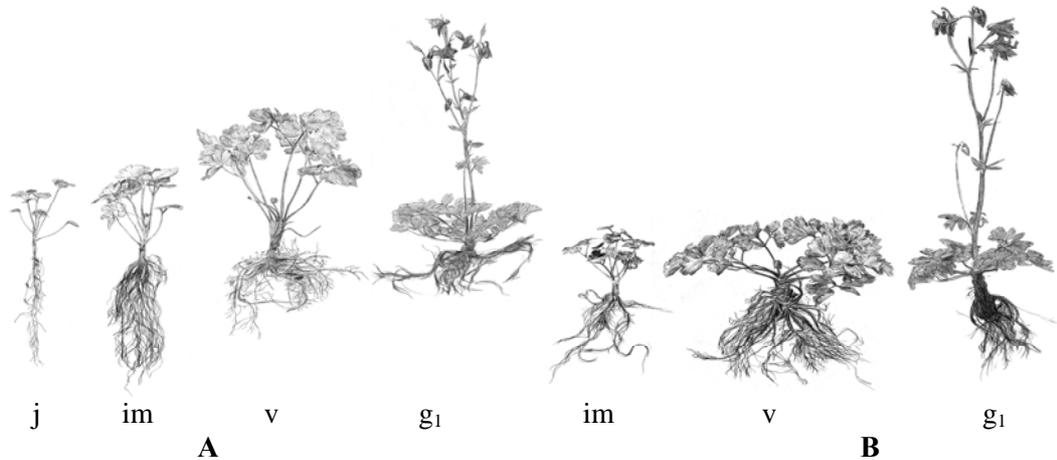


Рис. 4. Онтогенез *Aquilegia vulgaris* L. (A), *A. saximontana* Rydb. (B): j – ювенильное, im – имматурное, v – виргинильное возрастное состояние, g₁ – генеративный период (молодое генеративное растение)

Виргинильное возрастное состояние наступает в конце лета первого года жизни, на 4,5–5 месяц после появления всходов. Количество листьев в розетке 9–11 штук. Высота растений составляет 12,0 (*A. vulgaris*) – 27,0 см (*A. buergeriana* var. *oxucepala*). Высота особей *A. saximontana* меньшая по сравнению с другими видами и составляет 5,5 см. У *A. saximontana* черешки листьев располагаются практически параллельно почве, образуя низкую, широкую в диаметре розетку. Черешок характеризуется широким пленчатым основанием, охватывающим основание побега, длина его около 5,0 см. Длина черешка других видов варьирует от 7,5 (*A. vulgaris*) до 12,0 см (*A. alpina*, *A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`). Длина листа составляет 5,5–12,5 см, ширина 5,9 см–11,0 см. Самые крупные листья характерны для *A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica*, *A. einseleana*, мелкие – для *A. pyrenaica*. Толщина гипокотилия 1,0 (*A. pyrenaica*) – 1,6 см (*A. hybrida* `Agnenata Zvezda`), на нем располагаются почки возобновление в количестве 2–8 штук. Наибольшее количество почек закладывается у *A. einseleana*, *A. olympica*, *A. vulgaris*. У *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica* и *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` функционирует главный корень, длина его 8,0–14,0 см. У *A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica* главный корень ветвится до 5–го порядка, у остальных видов – до 4–го порядка. Количество придаточных корней 4–6 штук. Корневая система этих видов смешанного типа. У остальных исследованных видов: *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. saximontana*, *A. vulgaris*, *A. vulgaris* `Nora Barlow` главный корень отмирает, корневая система кистекорневая. Придаточные корни образуются на гипокотиле в количестве 5 (*A. einseleana*) – 17 штук (*A. alpina*). Придаточные корни у *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica* ветвятся до 5–го порядка, у остальных видов – до 3–го порядка. Длина придаточных корней составляет 8,0–20,0 см. Большая длина придаточных корней отмечена у *A. einseleana*, *A. olympica*, меньшая – у *A. pyrenaica*.

Осенью первого года жизни высота растений видов и сортов рода *Aquilegia* варьирует от 13,2 см (*A. pyrenaica*) до 21,0 см (*A. einseleana*). Количество листьев на растении 8–12 штук. Меньший размер сложного листа и длина черешка листа отмечены у *A. pyrenaica* и *A. chrysantha*: 5,5 x 5,9 см, 8,2 см; 6,5 x 6,5 см, 9,5 см соответственно. Длина черешка листа у других исследованных видов составляет 11,0–12,0 см. У *A. einseleana* самые крупные листья – 9,0 x 10,0 см. Длина листа остальных исследованных видов и сортов варьирует от 7,2 (*A. vulgaris* `Nora Barlow`) до 7,5 см (*A. alpina*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`), ширина – от 7,0 (*A. vulgaris* `Nora Barlow`) до 8,0 см (*A. alpina*). На гипокотиле закладываются почки возобновления в количестве 2–3 (*A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. saximontana*, *A. alpina*) – 8 (*A. einseleana*, *A. vulgaris*) и 10–15 штук (*A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica*). Растения втягиваются вглубь почвы благодаря сокращению контрактивных корней и гипокотилия. У *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* var. *oxucepala*, *A. olympica* главный корень функционирует, корневая система смешанного типа. Длина главного корня 8,0–18,0 см, ветвится до 5–го порядка. У *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` главный корень отмирает, корневая система кистекорневая. У *A. einseleana* и *A. alpina* формируется каудекс, размер которого 2,0 x 1,5 см; 1,0 x 1,3 см соответственно. Большое количество придаточных корней – 17

штук формируется у *A. alpina*, *A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. olympica*, среднее – 8–13 штук у *A. einseleana*, *A. vulgaris* `Nora Barlow`, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`. Виды *A. pyrenaica*, *A. chrysantha* характеризуются малым количеством придаточных корней – 4–6 штук. У *A. einseleana* и *A. alpina* придаточные корни ветвятся до 5-го порядка, у остальных исследованных видов – до 3-го порядка. Длина придаточных корней меньше у *A. pyrenaica* и *A. chrysantha* – 5,5–9,5 см по сравнению с другими исследованными видами – 10,5–20,0 см. В виргинильном возрастном состоянии растения заканчивают вегетационный период.

Генеративный период. Весной следующего года все исследованные виды, разновидности и сорта рода *Aquilegia* вступают в генеративный период: 87 % растений *A. alpina*; 80 % *A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. olympica*, *A. einseleana*, *A. vulgaris*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`, *A. vulgaris* `Nora Barlow`; 70 % *A. saximontana*; 55–60 % *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana*. В фазу бутонизации виды и сорта рода *Aquilegia* вступают в третьей декаде апреля – первой декаде мая, в фазу цветения – в первой – второй декадах мая. В розетке насчитывается от 5–6 (*A. alpina*) до 16 листьев (*A. saximontana*). Высота розетки колеблется от 6,0 см (*A. saximontana*) до 16,0–17,0 см (*A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana*). В отличие от других исследованных видов у *A. chrysantha* отмечено боковое ветвление. На каудексе формируется дочерняя розетка с генеративным побегом. У сортов *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` и *A. vulgaris* `Nora Barlow` также наблюдается боковое ветвление, на каудексе формируется по 2–3 дочерних розетки, каждая из которых состоит из 3–5 листьев. На гипокотиле дочерних розеток формируются придаточные корни и почки возобновления. Весной на второй год жизни у *A. pyrenaica*, *A. olympica*, *A. chrysantha* и *A. buergeriana* var. *oxycephala* отмирает главный корень. У остальных исследованных видов стержневой корень отмирает в виргинильном возрастном состоянии осенью первого года жизни, о чем приведено выше. У видов, разновидностей, сортов рода *Aquilegia* насчитывается от 1 (*A. alpina*, *A. pyrenaica*, *A. buergeriana*, *A. saximontana*, *A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. olympica*) до 2 (*A. chrysantha*, *A. vulgaris*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`) и 3 генеративных побегов (*A. einseleana*, *A. vulgaris* `Nora Barlow`) на растении. Высота генеративных побегов колеблется от 26,5 см (*A. hybrida* `Agnenata Zvezda`) до 50,0 (*A. pyrenaica*) – 55,0 см (*A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. olympica*). На генеративном побеге формируется 2–3 (*A. vulgaris*), 3–5 (*A. chrysantha*), 14–16 цветков (*A. alpina*, *A. pyrenaica*, *A. saximontana*, *A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. olympica*). Насчитывается 7–8 (*A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana*, *A. olympica*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`, *A. vulgaris* `Nora Barlow`), 10–12 (*A. einseleana*, *A. alpina*, *A. vulgaris*, *A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. vulgaris* `Nora Barlow`), 13–14 (*A. saximontana*) придаточных корней, которые у *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* ветвятся до 3-го порядка, у *A. buergeriana* var. *oxycephala*, *A. olympica* – до 5-го порядка, у остальных исследованных видов – до 4-го порядка. Длина придаточных корней составляет 7,0–10,0 (*A. pyrenaica*, *A. olympica*), 8,0–13,0 (*A. einseleana*, *A. alpina*, *A. buergeriana*), 13,0–18,0 см (*A. vulgaris*, *A. buergeriana* var. *oxycephala*). Длина каудекса колеблется от 0,9–1,0 (*A. chrysantha*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`, *A. vulgaris* `Nora Barlow`) до 3,5 см (*A. alpina*); толщина – от 0,8–0,9 (*A. einseleana*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`) до 1,3–1,5 см (*A. chrysantha*, *A. buergeriana*).

Таким образом, в условиях интродукции в степной зоне Украины появление всходов видов, разновидностей, сортов рода *Aquilegia* отмечено на 20–40-й день после высева семян, появление настоящего листа – через 5–14 дней после появления всходов, ювенильное возрастное состояние наступает через 3, имматурное – 4,5, виргинильное – 5–6 месяцев, генеративный период – весной второго года жизни. Общие диагностические признаки возрастных состояний видов рода *Aquilegia*: проростки – наличие семядолей и первого листа, укороченный эпикотиль; ювенильное – ветвление главного корня; имматурное – утолщение гипокотыля, отмирание семядолей, формирование и ветвление придаточных корней; виргинильное – втягивание базальной части главной оси стебля в почву, формирование почек возобновления; генеративный период – развитие генеративного побега. В виргинильном возрастном состоянии у *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* var. *oxysepala*, *A. olympica* корневая система смешанная, у остальных исследованных видов и сортов: *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. saximontana*, *A. vulgaris*, *A. vulgaris* `Nora Barlow`, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda` главный корень отмирает, корневая система кистекорневая. В молодом генеративном состоянии отмечено боковое ветвление у *A. chrysantha*, *A. hybrida* `Agnenata Zvezda`, *A. vulgaris* `Nora Barlow`, отмирание главного корня у *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. olympica*, *A. buergeriana* var. *oxysepala*, их корневая система становится кистекорневой.

Изучена семенная продуктивность видов рода *Aquilegia* в регионе интродукции. Наибольшее количество плодов на генеративном побеге образуется у субальпийских видов *A. alpina*, *A. olympica*, *A. saximontana* и лесного *A. oxysepala* var. *kansuensis*, наименьшее – у высокогорного *A. skinneri* (табл. 1). Больше количество цветков на генеративном побеге формируется у *A. alpina*, *A. nigricans*, *A. oxysepala* var. *kansuensis*, *A. olympica*, *A. vulgaris*, меньше – у *A. sibirica*; большее количество генеративных побегов у *A. alpina*, *A. oxysepala* var. *kansuensis*, *A. aurea*, меньше – у высокогорного *A. chrysantha*.

Наибольший процент плодоцветения в регионе интродукции отмечен у лесного *A. oxysepala* var. *kansuensis*, субальпийских видов *A. saximontana*, *A. alpina*, *A. olympica*, а также петрофита Балкан *A. aurea*. Низкие значения процента плодоцветения характерны для *A. nigricans*, *A. skinneri*, *A. chrysantha*, *A. atrata* (см. табл. 1). Высокая потенциальная семенная продуктивность в условиях региона интродукции характерна для *A. aurea* и *A. oxysepala* var. *kansuensis*, большие значения данного параметра – для *A. alpina*, *A. einseleana*, *A. olympica*, *A. vulgaris*. Низкие значения потенциальной семенной продуктивности характерны для *A. skinneri*, *A. atrata*, *A. saximontana*, *A. nigricans*. В регионе интродукции высокая реальная семенная продуктивность на плод отмечена у лесных и субальпийских видов: *A. einseleana*, *A. oxysepala* var. *kansuensis*, *A. alpina*, *A. olympica*, *A. buergeriana*, *A. vulgaris*, низкая – у высокогорных лесных видов: *A. flabellata*, *A. canadensis*, *A. chrysantha*. Субальпийские и лесные виды рода *Aquilegia*, петрофиты Балкан (*A. nigricans*) и Пиреней (*A. pyrenaica*) отличаются наибольшими значениями коэффициента семенификации, что свидетельствует о высокой степени их адаптации к новым условиям произрастания.

Таблица 1.
Семенная продуктивность видов рода *Aquilegia* L. в условиях степной зоны Украины

Вид	Эколого-ценотическая приуроченность	Количество плодов, шт.		Размер плода, см		Процент плодотворения, %	Семенная продуктивность на плод, шт.		Коэффициент семенификации, %
		на генеративном побеге	на растении	высота	толщина		потенциальная	реальная	
<i>A. oxysepala</i> var. <i>kansuensis</i>	леса	16,1±2,06	226,0±20,0	2,8±0,08	1,0±0,04	84,96	138,3±6,60	115,3±6,71	83,7±3,07
<i>A. buergeriana</i>	-	4,7±0,98	9,4±1,31	2,1±0,07	0,8±0,02	41,35	101,8±9,39	92,8±8,6	90,5±3,28
<i>A. aurea</i>	каменистые местообитания	7,7±1,20	126,5±15,0	3,7±0,13	0,9±0,03	59,90	154,3±6,05	45,4±9,85	29,4±3,66
<i>A. nigricans</i>	-	4,6±0,27	46,0±7,50	2,9±0,07	1,1±0,04	20,63	103,2±11,01	78,5±7,39	72,9±6,7
<i>A. pyrenaica</i>	-	7,0±1,35	15,8±2,50	2,6±0,08	1,0±0,04	70,00	84,1±7,75	48,7±5,92	58,4±7,84
<i>A. flabellata</i>	высокогорные леса	4,4±1,23	32,3±5,00	2,9±0,12	0,8±0,04	54,32	76,8±5,31	21,8±6,71	28,1±5,0
<i>A. canadensis</i>	-	8,1±0,98	27,8±5,30	1,9±0,09	0,6±0,03	54,00	79,8±7,53	21,5±6,46	25,4±8,56
<i>A. skinneri</i>	-	2,9±0,18	18,5±5,21	2,5±0,15	0,7±0,03	35,75	105,5±7,61	48,8±7,88	45,5±5,83
<i>A. chrysantha</i>	-	4,3±0,47	4,7±0,76	2,3±0,07	0,9±0,03	35,71	76,3±2,47	25,1±6,48	34,3±3,33
<i>A. atrata</i>	субальпийские, альпийские луга	5,3±0,88	14,0±3,49	2,8±0,12	1,1±0,06	34,78	102,8±12,31	58,2±12,36	54,3±4,85
<i>A. saximontana</i>	-	10,2±2,38	47,7±5,52	2,6±0,09	0,9±0,05	78,57	104,6±8,55	76,1±6,64	72,1±4,92
<i>A. alpina</i>	-	23,0±1,66	306,0±27,0	2,5±0,07	0,9±0,05	77,18	135,8±9,20	102,8±7,53	74,7±3,45
<i>A. einseleana</i>	-	8,1±1,66	19,1±5,38	3,2±0,06	1,1±0,04	55,90	131,0±5,3	115,4±5,86	88,1±1,12
<i>A. sibirica</i>	-	3,1±0,36	14,0±3,03	2,6±0,07	1,1±0,02	51,67	91,7±12,55	74,4±10,76	79,1±6,81
<i>A. olympica</i>	-	10,7±2,74	32,6±4,52	2,7±0,12	1,1±0,03	65,46	118,1±8,18	97,5±7,48	81,6±3,15
<i>A. vulgaris</i>	леса, луга, равнины, горы	9,0±1,02	72,3±8,3	2,3±0,08	0,8±0,03	56,86	109,1±5,38	92,2±4,92	84,3±2,66

У субальпийских видов рода *Aquilegia* потенциальная семенная продуктивность на плод зависит от агроклиматических характеристик мест их естественного произрастания: она увеличивается при возрастании количества годовых осадков и разницы годовых осадков и испарения, уменьшении солнечной радиации в июне, снижении температуры самого теплого месяца. Выявлено, что коэффициент семенификации субальпийских видов, который является косвенным показателем успешности их интродукции, выше у видов, произрастающих в местах с меньшей солнечной радиацией в июне (рис. 5).

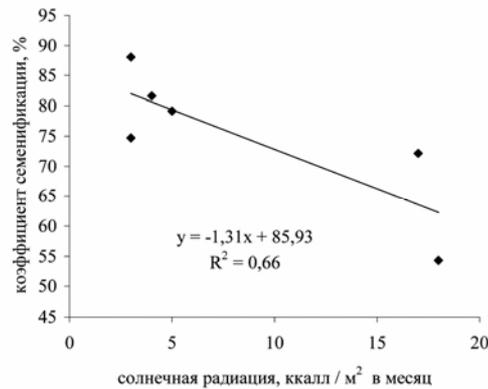


Рис. 5. Зависимость коэффициента семенификации субальпийских видов рода *Aquilegia* L. в условиях региона интродукции (степная зона Украины) от солнечной радиации в июне в местах их естественного произрастания

У высокогорных лесных видов рода *Aquilegia* в условиях региона интродукции выявлена прямая зависимость процента плодоцветения и обратная коэффициента семенификации от разности осадков и испарения, а также суммы температур выше 10 С° в местах естественного произрастания видов (рис. 6 А, Б). Реальная и потенциальная семенная продуктивность на плод высокогорных лесных видов выше в регионе интродукции при возрастании длительности периода с температурой выше 5, 10, 15 С° и суммы температур выше 10 С°, а также увеличении осадков в местах природного произрастания видов.

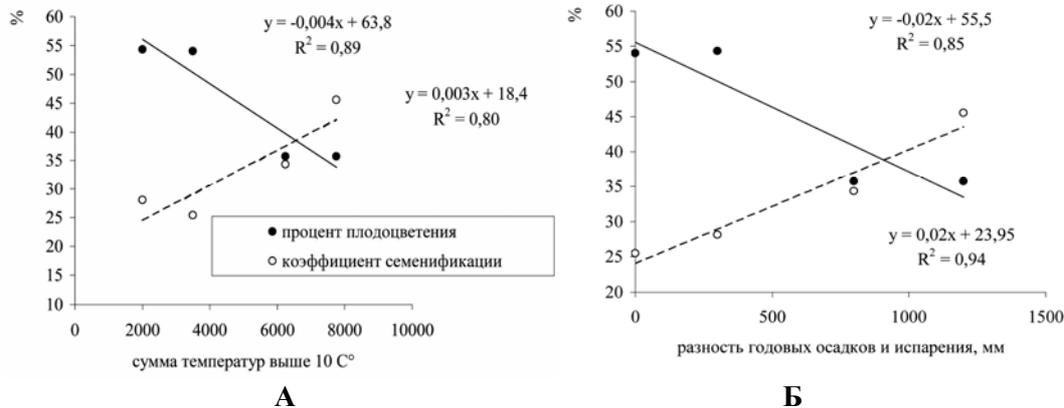


Рис. 6. Зависимость процента плодоцветения и коэффициента семенификации высокогорных лесных видов рода *Aquilegia* L. в условиях региона интродукции (степная зона Украины) от разности годовых осадков и испарения (А) и суммы температур выше 10 С° (Б) в местах их естественного произрастания

В регионе интродукции у лесных, субальпийских и видов с широкой экологической амплитудой коэффициент семенификации и реальная семенная продуктивность на плод больше по сравнению с видами высокогорных лесов и

петрофитов Балкан и Пиреней. Самый низкий процент плодоцветения и потенциальная семенная продуктивность на плод отмечены у высокогорных лесных видов (рис. 7).

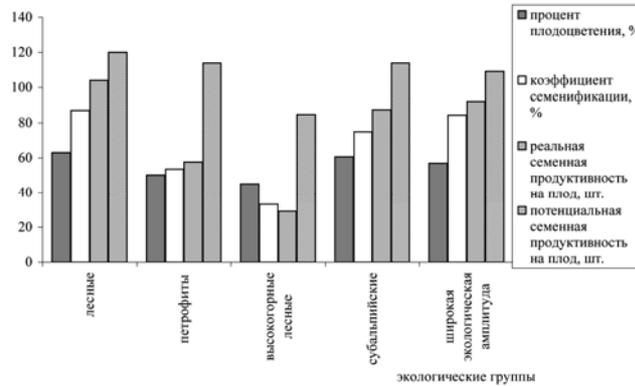


Рис. 7. Семенная продуктивность видов рода *Aquilegia* L. в условиях степной зоны Украины

Сравнение показателей семенной продуктивности видов разных экологических групп видов рода *Aquilegia* в регионе интродукции с агроклиматическими характеристиками мест их природного произрастания показало, что потенциальная и реальная семенная продуктивность на плод и генеративный побег, процент плодоцветения, коэффициент семенификации в условиях региона интродукции возрастают при уменьшении суммы температур выше 10 C° и длительности периода выше 15 C° (рис. 8 А, Б). Процент плодоцветения и коэффициент семенификации видов возрастают также при уменьшении испарения годовых осадков (рис. 9).

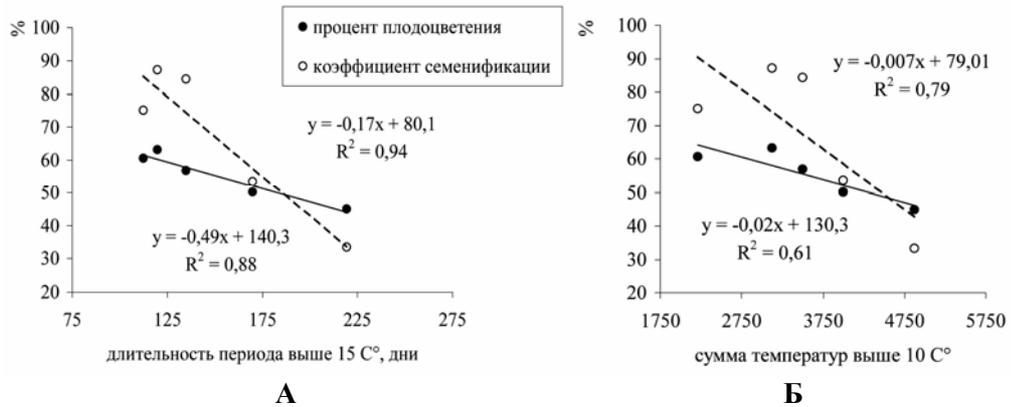


Рис. 8. Зависимость процента плодоцветения и коэффициента семенификации видов рода *Aquilegia* L. в условиях региона интродукции (степная зона Украины) от суммы температур выше 10 C° (А) и длительности периода выше 15 C° (Б) в местах их естественного произрастания.

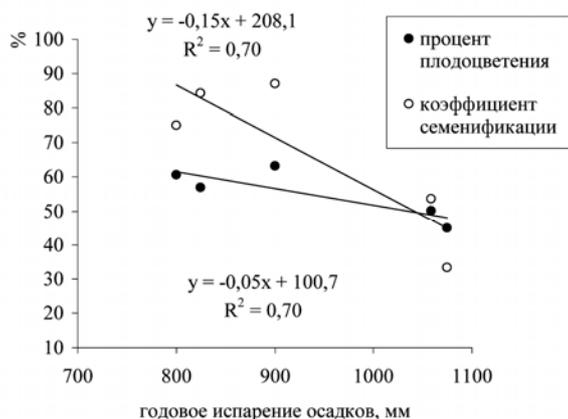


Рис. 9. Зависимость процента плодoцветения и коэффициента семенификации видов рода *Aquilegia* L. в условиях региона интродукции (степная зона Украины) от годового испарения осадков в местах их естественного произрастания

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в степной зоне Украины высокие значения процента плодoцветения, коэффициента семенификации и реальной семенной продуктивности отмечены у лесных, субальпийских видов рода *Aquilegia* и у видов с широкой экологической амплитудой, которые наиболее адаптированы к условиям региона интродукции. Выявлено, что в условиях региона интродукции показатели семенной продуктивности выше у видов из более холодных мест произрастания.

Список литературы

1. Bastida J.M., Alcantara J.M., Rey P.J., Vargas P., Herrera C.M. Extended phylogeny of *Aquilegia*: the biogeographical and ecological patterns of two simultaneous but contrasting radiations // *Plant Systematics and Evolution* – 284. – 2010. – P. 171–185.
2. Fulton M., Hodges S.A. Floral isolation between *Aquilegia formosa* and *A. pubescens* // *The Royal Society*. – 1999. – P. 2247 – 2252.
3. Medrano M., Castellanos M.C., Herrera C.M. Comparative floral and vegetative differentiation between two European *Aquilegia* taxa along a narrow contact zone // *Plant Systematics and Evolution*. – 2006. – P. 209 – 224.
4. Zhu R.R., Gao Y.K., Xu L.J., Zhang Q.X. Genetic diversity of *Aquilegia* (Ranunculaceae) species and cultivars assessed by AFLPs // *Genetics and Molecular Research*. – 2011. – 10 (2). – P. 817–827.
5. Tucker S.C., Hodges S.A. Floral ontogeny of *Aquilegia*, *Semiaquilegia*, and *Enemion* (Ranunculaceae) // *Int. J. Plant Sci.* – 166 (4). – 2005. – P. 557–574.
6. Merritt R.H., Gianfagna T., Perkins R.T., Trout J.R. Growth and development of *Aquilegia* in relation to temperature, photoperiod and dry seed vernalization // *Scientia Horticulturae*. – 69. – 1997. – P. 99–106.
7. Игнатъева И.П. Онтогенетический морфогенез вегетативных органов травянистых растений. – М., 1983. – 55 с.
8. Работнов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах. – Тр. БИН АН СССР. – Сер. 3. Геоботаника. – М.; Л.: АН СССР. – 1950. – Вып. 6. – С. 77–204.
9. Уранов А.А. Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических процессов // *Биол. науки*. – 1975. – № 2. – С. 7–34.
10. Ценопопуляции растений (Основные понятия и структура). – М.: Наука, 1976. – 216 с.

11. Федоров А.А., Кирпичников А.А., Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Лист. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1956. – 301 с.
12. Федоров А.А., Кирпичников А.А., Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Стебель и корень. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1962. – 352 с.
13. Мазуренко М.Т. Вегетативное размножение растений в связи с интродукцией / М.Т. Мазуренко, А.П. Хохряков // Бюл. Гл. ботан. сада АН СССР. – 1971. – Вып. 79. – С. 26–33.
14. Работнов Т.А. Методы изучения семенного размножения в сообществах // Полевая геоботаника. – М., Л. – Т.2. – 1960. – С.20–40.
15. Вайнагий И.В. О методике изучения семенной продуктивности растений // Ботан. журнал. – 1974. – С. 826–831.
16. Некрасов В.И. Роль семенной репродукции в оценке степени акклиматизации растений // Ритм роста и развития интродуцентов. – М.: Би. – 1973. – С. 90–93.
17. Методические указания по семеноведению интродуцентов. – М.: Наука, 1980. – 64 с.
18. Агроклиматический атлас мира. – М., Л.: Гидрометеиздат, 1972. – 115 с.

Крохмаль І.І. Репродуктивні особливості видів роду *Aquilegia* L. в умовах степової зони України. / І.І. Крохмаль // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 82-94.

Вивчено репродуктивні особливості видів роду *Aquilegia* L. в умовах степової зони України. Виявлено діагностичні ознаки, терміни і тривалість вікових станів. Генеративний період настає на другий рік життя рослин. У віргінільному віковому стані у *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* var. *oxysepala*, *A. olympica* коренева система змішана, у решти досліджених видів: *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. saximontana*, *A. vulgaris* головний корінь відмирає, коренева система пучкуватокоренева. У молодому генеративному стані у *A. chrysantha* відзначено бічне галузнення, у *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. olympica*, *A. buergeriana* var. *oxysepala* – відмирання головного кореня, коренева система цих видів пучкуватокоренева. Високі відсоток плодоцвітіння, коефіцієнт семеніфікації і реальна насіннева продуктивність характерні для лісових і субальпійських видів роду *Aquilegia*. У субальпійських видів зростає коефіцієнт семеніфікації при зменшенні сонячної радіації в червні в місцях їх природного зростання. У регіоні інтродукції у високогірних лісових видів з більш теплих і вологих місць зростання насіннева продуктивність і відсоток плодоцвітіння вище, а коефіцієнт семеніфікації – нижче. Виявлено, що в степовій зоні України показники насінневої продуктивності вище у видів з більш холодних місць зростання.

Ключові слова: види роду *Aquilegia* L., інтродукція, степова зона України, онтогенез, насіннева продуктивність.

Krokhmal I.I. The reproductive features of *Aquilegia* L. species under the conditions of the steppe zone of Ukraine / I.I. Krokhmal // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 82-94.

We studied the reproductive features of the genus *Aquilegia* L. under conditions of the steppe zone of Ukraine. The diagnostic features, terms and duration of age states have been revealed. These plants come into the generative period in their second year of life. At the virginile age the root system of *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. buergeriana* var. *oxysepala*, *A. olympica* state is mixed. The taproot dies in the rest of the studied species, namely *A. einseleana*, *A. alpina*, *A. saximontana*, *A. vulgaris*, and their the root systems are cluster-rhizomatous. At the young generative state the lateral branching is observed in *A. chrysantha*, whereas in *A. pyrenaica*, *A. chrysantha*, *A. olympica*, *A. buergeriana* var. *oxysepala* the main root dies off, and the root systems of these species are cluster-rhizomatous. A high percentage of fruitage and flowering, semenification coefficient and real seed productivity are characteristic of forest and sub-alpine *Aquilegia* species. The semenification coefficient increases in subalpine species with the decrease of solar radiation in June in their natural habitats. In the region of introduction the seed production and percentage of fruitage and flowering is higher and semenification coefficient is lower in the high-mountain forest species from warmer and more humid habitats. A higher seed production rates in the steppe zone of Ukraine were revealed in the species from colder habitats.

Keywords: *Aquilegia* L. species, introduction, the steppe zone of Ukraine, ontogeny, seed production.

Поступила в редакцію 28.04.2013 г.

УДК 612.119 + 612.017.1

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПРОЯВЛЕНИЯХ МЕХАНИЗМОВ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Кузьменко Е.В.

*Государственное Учреждение «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева
НАМН Украины», Харьков, Украина
E-mail: radimir07@mail.ru*

Представлены данные о проявлениях психоемоционального стресса. Обсуждаются механизмы индивидуальных особенностей психоемоционального стресса. Рассматриваются различные индивидуальные биоритмологические особенности организма.

Ключевые слова: стресс, биологические ритмы, иммунная система.

Учение о стрессе – одно из крупнейших завоеваний научной мысли XX века в области биологии и медицины. Канадский физиолог и фармаколог Ганс Селье опубликовал свои первые работы о неспецифическом общем ответе организма на вредные воздействия – повреждения и интоксикации [1]. Учение о стрессе уходит своими корнями в фундаментальные работы Бернара – автора представлений о гомеостазе, интеграции физиологических функций и болезнях, как отклонениях от гомеостаза. Предшественником Г.Селье в формировании теории стресса был У. Кэннон, который развил учение о роли симпатической нервной системы, мозгового вещества надпочечников в эмоциональных реакциях организмов в условиях напряжения (strain). У. Кэннон впервые описал “необходимый ответ” организма на конфликтные, угрожающие ситуации – “fight or flight” – “атакуй или беги”, включающий активацию симпато-адреномедулярной системы (САМС). У. Кэннон охарактеризовал эту реакцию как “неспецифический ответ организма на некоторые требования к нему”. Значительным вкладом в развитие представлений о регулирующей ответ организма роли САМС явились работы Л.А. Орбели об адаптационно-трофической функции симпатической нервной системы. Ныне активация САМС рассматривается как важнейшая составная часть стресс-синдрома. В своей статье Г.Селье [1] дает такое определение: “Если организм поврежден острым неспецифическим вредоносным агентом (холод, хирургическая операция, спинальный шок, мышечное напряжение, интоксикация) возникает типичный синдром, симптомы которого независимы от природы повреждающего агента”. Близкое определение дает П.Г. Горизонтов [2], подразумевая под стрессом “общую неспецифическую нейрогормональную реакцию, возникающую в организме в условиях, угрожающих нарушением гомеостаза”. По М.Ф.Астерита [3], стресс – это

общий неспецифический ответ, индуцированный в биологической системе специфическими агентами и синдромами. Стресс-ответ по G. Huether [4], действует как триггер адаптивной модификации структуры и функции мозга высших позвоночных, способствующий их упорядоченности. Адаптация – понятие еще более широкое, чем стресс. В связи со стрессом, адаптация рассматривается как индивидуальное фенотипическое приспособление стрессированного организма к конкретным изменившимся условиям внешней и/или внутренней среды. По определению Мадиевского Ю.М. [5] адаптацию следует рассматривать как системную реакцию организма, обеспечивающую возможность всех видов жизнедеятельности. По другому определению [6], адаптация – это "совокупность реакций живой системы, поддерживающих ее функциональную устойчивость при изменении условий окружающей среды". К.К. Платонов определяет адаптацию как "пластичное приспособление внутренних изменений к изменениям внешним". Как указывает Р.М. Баевский [6], процессы адаптации направлены на поддержание равновесия внутри организма и между организмом и средой, и связаны как с самосохранением функционального уровня саморегулирующейся системы, так и с выбором функциональной стратегии достижения цели. А поскольку понятие адаптации отождествляется с понятием жизни, с этой точки зрения индивидуальная адаптация есть процесс непрерывный, не прекращающийся ни на одно мгновение, и потому стресс нужно считать постоянным спутником жизни. Именно так подходит к этому вопросу Г.Селье [1]. Потребность в обновлении формулировки понятия «стресс» и смысла, вкладываемого в него, стала особенно необходимой, когда выяснилось, что не только высшие позвоночные, но и низшие животные, и растения, и одноклеточные, и клетки многоклеточных организмов подвергаются стрессорным напряжениям, на которые реагируют комплексом изменений, биологически целесообразных, адаптивных, неспецифических, хотя и различным по своим механизмам. Таким образом, обобщающее определение стресса должно быть применимо ко всем этим ситуациям. Стресс следует определять как неспецифический ответ (неспецифический компонент ответа) живой системы на экстремальные стимулы различной природы, исходящие как извне, так и изнутри системы и угрожающие нарушением ее гомеостаза [7].

Все разнообразные стресс-агенты вызывают в организме развитие общего неспецифического синдрома адаптации-стресса. Однако каждый из стрессоров наряду со стереотипным синдромом индуцирует и некие специфические для этого именно агента черты ответа. Ответ живой системы на воздействие каждого стрессора есть сочетание, комбинация, единство неспецифического и специфического компонентов. Поэтому порожденные воздействием стрессора ответы, при всей их принципиальной общности, все же и существенно отличаются друг от друга адекватно особенностям каждого агента, порождают в организме и частные специфические реакции. Это обстоятельство и позволяет классифицировать стрессы, с учетом специфики каждого их вида [8].

Все разнообразие стрессорных реакций организма можно распределить на две большие группы: средовые стрессы, являющиеся следствием экстремальных колебания параметров природной среды [9]. Близкие к средовым стрессам такие

физиологические (соматические) стрессы, как физические нагрузки, иммобилизация, радиация как стресс-агент [10, 11], шоки и травмы – механические, электрические, кровотечения, хирургические операции, химические воздействия, тепловой и холодный стрессы, биологические стрессы (атака вирусов, бактерий, аллергенов, воспаления) [12]. Вторая большая группа стрессов – психологические, психоэмоциональные и психосоциальные стрессы, результат изменений собственной реактивности. Эта группа стрессов опосредуется преимущественно вербальными воздействиями [6, 13]. К тому же стрессам средней и физиологической природы, как правило, сопутствуют эмоциональные компоненты как результат анализа и оценки стрессовой информации в мозговых центрах [14, 15]. По представлениям Г. Селье, активация систем нейро-гуморальной регуляции при стрессе происходит не непосредственно под влиянием стресс-агентов, а посредством гипотетического «первичного медиатора». Есть достаточно оснований полагать [1], что именно продукты ПОЛ, концентрация которых при активации этого процесса превышает базальный уровень, играют роль искомого первичного медиатора, запуская весь механизм адаптационных реакций организма в ответ на экстремальное воздействие.

Возникновение и характер стресса определяются не только действием раздражителя, но и реактивностью организма в момент воздействия стрессора. Последняя в свою очередь зависит от многих причин, например, от наследственности, ранее перенесенных воздействий, возраста, одновременного воздействия различных веществ, от кратковременного состояния функций организма и т.д. По [16], эти факторы названы обуславливающими. Это объясняет, почему один и тот же стрессор у разных индивидуумов может вызывать различные проявления и последствия.

В зависимости от реактивности организма и независимо от природы раздражителя решающее значение в эфферентном осуществлении стресс-реакции имеют два пути: с преобладанием парасимпатического тонуса через гипоталамус – гипофиз – кору надпочечников, либо через возбуждение симпатической нервной системы, которое проявляется путем выделения катехоламинов – адреналина в мозговом слое надпочечников, норадреналина – в центральной нервной системе и в адренергических синапсах [17]. Определение психоэмоционального стресса было сформулировано R.S. Lazarus, R.W. Baker в 1957 г. По их представлениям физиологический стресс возникает при непосредственном действии стрессоров на ткани организма физико-химическим путем, а изменения тканей порождает ответную нейрогуморальную реакцию организма.

Типологические наследственно обусловленные особенности психоэмоциональной сферы применительно к проблеме стресса состоят, прежде всего, в степени уязвимости индивида по отношению к секундным событиям. Событие, которое для уравновешенного субъекта является (и воспринимается им) как рядовое, обычное, для индивидуума с повышенной реактивностью, уязвимостью может оказаться стрессогенным [18].

Выделяется три типа психической напряженности:

– стрессустойчивые – демонстрируют адекватность реакций;

- стресснеустойчивые – присущи дезадаптивные невротические расстройства;
- группы со средним значением [19].

Одним из методов разделения группы лабораторных животных (крыс) на эмоциональных и неэмоциональных производится по ряду поведенческих признаков в тесте открытого поля. Эмоциональные животные более чувствительны к действию стрессоров [20]. Физиологические корреляты экспериментального психоэмоционального стресса в значительной степени обусловлены генетически и зависят от исходного уровня эмоциональности и тревожности [21]. В частности, наследственно обусловлены особенности состояния и функционирования КА-эргических систем мозга, определяющие индивидуально-типологические различия реактивности и в конечном счете – резистентности организма к стрессам [22]. По утверждению, характер, интенсивность и продолжительность нарушений ВНД при ПЭС зависят главным образом от типологической характеристики нервной системы. В стрессовой ситуации у животных сильного типа резко возрастает уровень ацетилхолина в крови, и это соответствует незначительным нарушениям поведения. В той же ситуации у животных слабого типа уровень ацетилхолина резко падает, и это соответствует длительной задержке восстановления нарушенного поведения. Индивидуальные различия в ответе на действие стрессоров, помимо генетических различий, могут быть обусловлены предшествующим опытом и различием в восприятии и оценке стрессора [23].

Проявление стресса включают в себя три стадии развития: первая – стадия тревоги, вторая – резистентности и третья – стадия истощения [24]. Эти три стадии стресса определяют изменения не только эмоционального состояния организма, но и общего баланса обменных процессов, о чем можно судить, например, по изменению массы тела у растущих крыс. Изучение изменений массы тела в различные стадии стресса показало, что после первичного уменьшения массы тела, которое характерно для стадии тревоги, начиная с 5-х суток, происходит ее увеличение, сопровождающее стадию резистентности. На 14-е сутки наблюдается вторичное уменьшение массы тела, свидетельствующее о наступлении стадии истощения. Процесс адаптации к стрессовому фактору подвержен колебательному режиму в любой ее фазе (тревога, резистентность, истощение) [25].

В состоянии стресса живая система стремится к увеличению периода колебательных процессов с целью продлить период восстановления, накопить больше энергетических и пластических резервов, необходимых для последующего повышенного их расхода. Это стремление реализуется далеко не всегда, и прежде всего потому, что каждая функциональная структура в организме не автономна, а вписана в общую целостную организацию и поэтому подчинена в своей деятельности не только собственным интересам, но и в первую очередь интересам всего организма. В тех случаях, когда для обеспечения общей задачи требуется учащение колебаний, т.е. уменьшение их периода, частная рабочая система, вопреки собственным интересам, вынуждена реагировать на требования организма именно таким образом, что выражается, например, в увеличении частоты сердечных сокращений и дыхания при физической нагрузке, при эмоциональном возбуждении и т.д [26].

Высокая частота ритма активности может быть навязана частной рабочей системе путем учащения ритма эфферентной импульсации, исходящей из управляющих отделов ЦНС. Подчиняя свои нужды общим целям, отдельная рабочая единица страдает, и в этом состоит одно из многочисленных внутренних противоречий адаптационного процесса. Таким образом, биоритмологическими индикаторами стресса являются увеличение амплитуды ритмических процессов организма (за счет интенсификации внутриклеточного метаболизма и вовлечения в деятельность резервных функциональных структур, вначале с их неполной, а затем – при продолжающемся действии стресс-агента – с тотальной взаимной синхронизацией) и трансформация высокочастотных колебаний в колебания с меньшей частотой [27]. Иначе говоря, подчеркнутая выраженность ритма, характеризующегося избыточно высокой (по сравнению с обычными величинами) амплитудой, появление низкочастотных составляющих в спектре биологических колебаний, синхронизация ритмов отдельных функциональных структур свидетельствуют об активизации адаптационного процесса, о наличии стресса, превышающего обычный уровень «стресса покоя» [5, 28].

Единство стабильности и нестабильности в живых системах обеспечивается колебательным характером жизненных процессов.

В феномене биологического ритма воплощается сочетание качественной устойчивости организма и, в то же время, его непрерывной изменчивости, благодаря которой в единстве организм-среда все время сохраняется элемент новизны, действующий как раздражитель и тренирующий тем самым механизм адаптации. Адаптация, таким образом, есть процесс колебательный, волнообразный [29]. Эта волнообразность обусловлена противоречивостью жизненного процесса и поэтому не требует для объяснения своего генеза поиска каких-то внешних (по отношению к организму) колебаний, синхронных с наблюдаемой волнообразностью адаптационных реакций. Безусловно, колебательные процессы, протекающие в живых организмах, испытывают воздействия внешних факторов, но первопричина биологических колебаний находится не вне организма, а в самом организме, во внутренней противоречивости феномена биологического ритма, в его самовозбуждающемся характере. Соответствие периодических процессов в живых системах некоторым колебательным процессам во внешней среде (например, флуктуациям солнечной радиации или напряженности геомагнитного поля) является свидетельством только влияния вторых на первые, но никак не говорит о наличии прямой причинно-следственной связи между ними [30, 31].

Колебание активности коры надпочечников при стрессе сопровождается колебаниями адренкортикотропной активности гипофиза, а последнее, в свою очередь, колебаниями кортикотропина с возбуждающей функцией гипоталамуса. Колебания функции коры надпочечников наблюдаются при стрессе. В исследовании [32] динамика концентрации кортикостерона в крови крыс после плавания имела характер затухающих колебаний. Suzuki et al [9] в течение 120 минут после окончания бега регистрировали у собак содержание 17-ОКС в крови, что характеризовалось волнообразной динамикой содержания данного показателя. При более интенсивной работе амплитуда колебаний была выше. Таким образом,

мышечная нагрузка (равно как и резкое приращение активности мышечной деятельности) сопровождается волнообразной динамикой функции коры надпочечников [33]. Неспецифические реакции организма на иммобилизацию также носят волнообразный характер.

Иммобилизационный стресс сопровождается колебаниями митотического индекса клеток коры надпочечников крыс: 1-я фаза – угнетение митозов, 2-я – стимуляция митотической активности, 3-я – повторное падение митотической активности. Очевидно, эти колебания отражают колебания функциональной активности коры надпочечников: согласно известному правилу антагонизма между функцией и размножением клеток, угнетение митотической активности в 1-й фазе стресс-реакции соответствует функциональной активации коры надпочечников; последующий период стимуляции митотической активности совпадает с угнетением глюкокортикоидной функции надпочечников; 3-я фаза – вторичное угнетение митозов – соответствует вторичному повышению функциональной активности этого органа [34]. После иммобилизационного стресса у крыс в течение 25 мин. можно наблюдать 2 волны кортикотропин-высвобождающей активности гипоталамуса (т.е. активности кортикотропин-высвобождающего фактора – кортиколиберина): первая волна с максимумом в момент прекращения иммобилизации и вторая, значительно меньшая по амплитуде, с максимумом на 18-й минуте с момента прекращения иммобилизации [35, 41]. Рассмотрев реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на воздействие стрессовых факторов, убедились в том, что на всех уровнях этой системы такие реакции носят волнообразный, колебательный характер. В начальном периоде раздражения отмечается активация всех звеньев этой системы, а затем начинается чередование всех фаз угнетения и мобилизации. В то же время, несомненно, имеют значение и индивидуальные особенности организма, накладывающие свой отпечаток на все конкретные особенности реакции, в том числе и на частоту колебаний регистрируемых показателей.

Однако, волнообразность стрессовых реакций характерна не только для гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, но и для более широкого круга проявлений жизнедеятельности организма.

Приспособительные реакции организма в ответ на действие стрессового фактора не сопровождаются автономными изменениями отдельных физиологических параметров, функций, а представляют собой взаимообусловленный интегративный ответ различных функциональных систем [36]. Существенная роль в их интеграции принадлежит иммунной системе, которая является важным источником информации о состоянии адаптационных резервов организма [37]. Проблема влияния стресса на уровень функционирования иммунной системы теснейшим образом связана с проблемой адаптации организма и с изменяющимися условиям среды. Наличие суточных ритмов установлено практически для всех исследованных физиологических функций человека и животных [38] и функции иммунной системы не являются в этом плане исключением, входя необходимым компонентом в структурно – временную организацию живой системы.

Колебательные процессы с периодом 24 ч. или около 24 ч. обнаружены для митотической активности клеточных элементов лимфоидных органов, интенсивности клеточного и гуморального иммунного ответа в соотношении лимфоидных субпопуляций, чувствительности лимфоцитов.

За последние годы получены данные [39], свидетельствующие о различной реакции иммунной системы на то или иное воздействие в зависимости от циркадной фазы, в которой применяется данное воздействие.

Изучение механизмов развития реакций иммунной системы на внешний раздражитель (стрессор) в зависимости от ее исходного состояния в момент воздействия может открыть перспективы целенаправленного воздействия на иммунный статус с учетом его биоритмов, а также прогнозирования конечного результата действия стрессового фактора в зависимости от исходного состояния лимфоэндокринных взаимодействий.

Современный уровень знаний позволяет считать не вызывающим сомнения фактом тесную взаимосвязь функционирования иммунной системы с уровнем продукции кортикостероидов. При исследовании влияния гормонов коры надпочечников на различные этапы иммуногенеза рядом авторов [40] было показано их иммунодепрессивное действие, которое является суммарным результатом торможения различных этапов иммуногенеза и метаболизма лимфоидных клеток вплоть до их лизиса. Кроме того, кортикостероиды влияют на перераспределение лимфоцитов в организме, которое является важнейшей особенностью функционирования иммунной системы. Направленность ряда физиологических эффектов эндогенных опиоидных пептидов при стрессе противоположна эффектам глюкокортикоидов и катехоламинов.

За последние годы получены данные [46], свидетельствующие о различной реакции иммунной системы на то или иное воздействие в зависимости от циркадной фазы, в которой применяется воздействие. Действие стрессового фактора, в эксперименте [41], вызывало разнонаправленное изменение суточных ритмов числа лимфоцитов в периферической крови. Иммунный ответ снижался во всех случаях, но при вечернем воздействии это снижение было менее выражено.

Стресс угнетает не только гуморальный иммунитет и снижает устойчивость к болезням, но и изменяет многие показатели клеточного иммунитета, отслеживаемого на уровне различных органов иммунной системы [42]. Центральный орган Т-клеточного звена иммунитета тимус реагирует на психоэмоциональное воздействие снижением дифференцировки Т-клеток. В целом же влияние стресса на Т-клеточное звено иммунитета можно расценивать как супрессивное, причем иммуносупрессия, имеет центральное происхождение и связана с нарушением тимической дифференцировки Т-лимфоцитов под влиянием измененного состояния серотонинэргической и дофаминэргической систем мозга [4]. Важная роль в регуляции гомеостаза принадлежит Т-лимфоцитам, мигрирующим в костный мозг при экстремальных состояниях [17]. При этом Т-лимфоциты осуществляют свои регуляторные влияния на кроветворение в кооперации с мононуклеарными фагоцитами. Следует отметить, что указанные

клетки продуцируют биологически активные молекулы, обуславливающие медиаторные функции не только в иммунной системе.

Иммобилизационный стресс вызывает выраженный нейтрофилез, при котором содержание нейтрофилов увеличивается в 6 – 7 раз. Число лимфоцитов через 6, 9 и 12 часов резко снижается, возвращаясь к пределам нормы через 24 часа. Содержание эозинофилов снижается через 3-12 часов и нередко до нуля, так же возвращаясь к норме в конце первых суток. Изучение клеточного состава костного мозга показало, что уже через 3 часа отмечается значительное увеличение в нем содержания лимфоцитов, сохраняющееся на протяжении 6-9 часов. Вслед за этим число лимфоцитов резко уменьшалось и через 24 часа достигало уровня нормы. Число зрелых гранулоцитов в костном мозге в период между 6 и 9 часами убывало, возвращаясь к норме уже через 12 – 24 часа. Содержание бластных клеток гранулоцитарного ряда (миелобласт – миелоцит) в течение 24 часов находится в пределах доверительного интервала нормы и через 48 часов увеличивалось. Нужно заметить, что при стрессе изменяется не только количество тех или иных форменных элементов крови, но и их функциональное состояние. В работе [43] использовали крыс-самцов линии Wistar, подвергнутых 6-часовому иммобилизационному стрессу. Через 3 часа от начала иммобилизации наблюдали нейтрофильный лейкоцитоз с максимальной выраженностью через 6 часов. Увеличение абсолютного числа нейтрофилов сохранялось до 5-х суток. Изменение интегральных относительных показателей нейтрофильного фагоцитоза (процент фагоцитоза и фагоцитарное число) имело 2-х фазный характер. Первая фаза (совпадающая с периодом иммобилизации) характеризовалась снижением процента фагоцитирующих клеток и фагоцитарного числа. Однако в связи с развитием нейтрофильного лейкоцитоза относительные показатели недостаточно отражают изменения фагоцитарной активности нейтрофилов в суммарном выражении. Поэтому более целесообразно рассматривать абсолютные показатели – абсолютное число фагоцитирующих нейтрофилов и абсолютное число захваченных ими объектов фагоцитоза. Первый показатель в период иммобилизации повышается, а второй – не изменяется. По-видимому, разная направленность динамики относительных и абсолютных показателей в этот период связана с выбросом из костного мозга относительно незрелых в функциональном отношении нейтрофилов, подтверждением чему является увеличение числа палочкоядерных и юных нейтрофилов. Вторая фаза (спустя 24 ч. от начала иммобилизации) характеризуется повышением как относительных, так и абсолютных показателей нейтрофильного фагоцитоза [43, 44].

Такие же закономерности наблюдались в динамике показателей моноцитарного и эозинофильного фагоцитоза. Однако впервые 6 часов стресса наблюдается снижение относительных и абсолютных показателей моноцитарного фагоцитоза.

Депрессия моноцитарного фагоцитоза и развитие моноцитопении в ранний период стресса может быть проявлением депрессивного действия глюкокортикоидов на клетки системы мононуклеарных фагоцитов.

Наблюдалось развитие эозинопении через 3 часа после иммобилизации, однако депрессии эозинофильного фагоцитоза выявлено не было. Эозинопения развивалась

преимущественно за счет снижения нефагоцитирующих эозинофилов. При стрессе наблюдали двухфазные изменения абсолютного содержания моноцитов и эозинофилов.

Наблюдается глубокая и длительная депрессия относительных показателей бактерицидной активности циркулирующего пула фагоцитирующих клеток, которая развивается через 1 час после иммобилизации и сохраняется до 18 часов [44].

Адекватную оценку стресса и иммунитета как общебиологических категорий, понимание их природы, роли и механизмов осуществления может обеспечить применение сравнительно-биологического метода анализа. Сравнительно-биологический метод позволяет, однако, не только определить главную и универсальную закономерность в массе многочисленных процессов [45].

Реализации стрессорных реакций через иммунную систему доказывается возможностью индукции некоторых проявлений стресса лимфоцитами, выделенными от животных, находящихся в состоянии стресса. Такие лимфоциты, введенные интактному животному, вызывают у последнего изменения, наблюдающиеся во время стресса [38].

Исследования последнего времени показали, что клетки иммунной системы обладают рецепторами ко многим нейротрансмиттерам и нейромодуляторам. В настоящее время вскрыты механизмы нейроиммунных взаимодействий на уровне рецепторного аппарата мембран клеток. На мембранах лимфоцитов обнаружены рецепторы к медиаторам – бета-эндорфину, метэнкефалину, белку Р, адренергическим веществам. Установлено, что иммунокомпетентные клетки способны продуцировать кортикотропин, эндорфин, энкефалин. Доказана возможность действия медиаторов иммунитета – интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-2 и ИЛ-6), интерферонов, фактора некроза опухолей (ФНО)— на нейроглиальные клетки и нейроны. Под влиянием ИЛ-1 и ФНО усиливается секреция кортикотропина клетками гипофиза. В свою очередь, нейроны способны продуцировать ИЛ-2 и ИЛ-6. Установлено, что мембраны нейронов и лимфоцитов снабжены одинаковыми рецепторами для кортикотропина, вазопрессина и бета-эндорфина. Доказано, что при синдроме гиперпродукции цитокинов избыточная секреция макрофагами ИЛ-1, интерферона и ФНО является причиной депрессивных состояний, что сопровождается мышечной слабостью, длительным субфебрилитетом, панцитопенией, гепатоспленомегалией. Развитие депрессии ведет к снижению функции ЕК-клеток на фоне резкого повышения продукции кортикостерона и кортизола. В условиях стресса под влиянием глюкокортикоидов и половых гормонов подавляется функция иммунной системы. Адреналин и норадреналин подавляют миграцию лейкоцитов и активность лимфоцитов. Кроме того, лимфоциты на своей мембране имеют также рецепторы к таким гормонам, как инсулин, тироксин и соматотропин. Последний также способен модулировать функцию Т- и В-лимфоцитов [35].

Установлено, что стресс вызывает депрессию Т-лимфоцитов и макрофагов, обеспечивающих тканевой гомеостаз и элиминацию поврежденных и перерожденных, в том числе и опухолевых клеток (особенно важна в этом отношении деятельность лизирующих Т-л – киллеров). Это позволяет объяснить,

почему воздействие стресса приводит к снижению противоопухолевого иммунитета [35].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день, в литературе, все данные о состоянии систем кроветворения и иммунитета (по характерным показателям) у разных по реактивности животных имеют фрагментарный и, подчас, противоречивый характер. Таким образом, проведенный анализ данных литературы свидетельствует об отсутствии единых взглядов на данную проблему. В последние годы появились отдельные публикации о состоянии систем кроветворения и иммунитета у разных по реактивности животных [34, 44, 46]. Однако, эта проблема далека от решения.

Список литературы

1. Selye Y. Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxications / Y. Selye // *Brit.J.Expr. Pathol.* – 1936. – Vol.17. – P.234 – 248.
2. Горизонтов П.Д. Система крови как основа резистентности и адаптации организма / П.Д. Горизонтов // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* –1981. – №2. – С. 55 – 63
3. Asterita The physiology of stress / Asterita // *Human Sciences Press NY.*, 2009. – 264 p.
4. Huether G. The central adaptation syndrome: Psychosocial stress as trigger for adaptive modifications of brain structure and brain functions / G.Huether // *Progr. Neurobiol.* – 1996. – Vol.48. – P.567 – 612.
5. Мадиевский Ю.М. Многолетние биологические ритмы лабораторных животных / Ю.М Мадиевский, А.С.Хилко // *Сибирский медицинский журнал.* – 2010. – № 4. – С. 83 – 88
6. Барабой В. А. Перекисное окисление и стресс / В.А.Барабой, И.И.Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б.Кудряшов – СПб: Наука, 1992. – 184 с
7. Барабой В.А. Стресс: Природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В. А. Барабой. – К.: Фитосоцицентр, 2006. – 424 с.
8. Сандомирский М.Е. Механизмы психической адаптации./ М.Е. Сандомирский – Уфа: Здравоохранение Башкортостана, 2001. – 88 с.– (Психическая адаптация в условиях пенитенциарного стресса.)
9. Suzuki T. Effect of muscular exercise on odrenal 17 – hydroxycorticosteroid secretion in the dog / T. Suzuki, O. Kensaki, M. Hideo [et. al.] // *Endocrinology.* – 1997. – Vol. 80. – № 6. – P. 1148 – 1151.
10. Ashkinazi I. Pain sensitivity in chronic psuchoemotional stress in humans / I. Ashkinazi, E.A. Kershina // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 1999. – Vol. 29. – P. 333 – 337.
11. Барабой В. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии // В.А. Барабой, Д.А. Сутковой – К.:Наук.думка, 1991. – 256 с.
12. Levi F. Chronobiology of the Immune system. / F. Levi, P. Bourin, P. Depres-Brummer [et al.] // *Clin.Immunother.* – 1994. – Vol. 1, №2. – P. 53 – 64.
13. Fber J. Forest processes and global environmental changes: Predicting the effects of individual and multiple stressors / J. Fber, R.P.Neilson, McNutty St [et al.] // *Bioscience.* – 2011. – Vol. 51 – P.735 – 751.
14. В'язовська О.В. Вплив емоційного стресу на церебральну нейродинаміку та варіабельність серцевого ритму щурів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.13 "фізіологія людей і тварин"/ О.В.В'язовська. – Х., 2008. – 20, [1] с.
15. Москаленко І.П. Прояв індивідуальної реактивності щурів у пострадіаційній депресії лейкопоезу / І.П.Москаленко, Н.А.Никифорова, І.М.Лозінська [та ін.] // *Український радіологічний журнал.* – 1995. – №3. – С. 256 – 260
16. Levi F. Chronobiology of the Immune system. / F. Levi, P. Bourin, P. Depres-Brummer [et al.] // *Clin.Immunother.* – 1994. – Vol. 1, №2. – P. 53 – 64.

17. Шилов О.И. Адренергические механизмы регуляции функций фагоцитирующих клеток периферической крови крыс при остром стрессе / О.И. Шилов, Е.Г. Орлова // Медицинская иммунология. – 2000. – Т.4, № 1. – С. 29 – 36.
18. Акмаев И.Г., Волкова О.В., Гриневиц В.В., Ресненко А.Б. Эволюционные аспекты стрессорной реакции // Вестник РАМН. -2002. -№6. -С. 24-27.
19. Vagal immune-to-brain communication: a visceral chemosensory pathway / L.E. Goehler, R.P. Gaykema, M.K. Hansen et al. // Auton. Neurosci. – 2000. – Vol. 85, № 1–3. – P. 49–59
20. Tanga F.Y., Nutile-McMenemy N., DeLeo J.A. The CNS role of Toll-like receptor 4 in innate neuroimmunity and painful neuropathy // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2005. –Vol. 102, № 16. – P. 5856-5861
21. Boettger M. K. Antinociceptive effects of tumor necrosis factor alpha neutralization in a rat model of antigen-induced arthritis: evidence of a neuronal target / M.K. Boettger, S. Hensellek, F. Richter [et al] // Arthritis Rheum. – 2008. – Vol. 58, № 8. – P. 2368–2378
22. Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития / И.А. Аршавский. – М.: Наука, 2002. – 258 с.
23. Marsland A.L. Stimulated production of proinflammatory cytokines covaries inversely with heart rate variability / A.L. Marsland, P.J. Gianaros, A.A. Prather [et al] // Psychosom. Med. – 2009. – Vol. 69, № 8. – P. 709–716.
24. Бондаренко Н. А. Влияние хронического эмоционального стресса на состояние перекисного окисления липидов в тканях и крови эмоциональных и неэмоциональных крыс / Н.А.Бондаренко, Т.А.Девяткина, О.Н.Воскресенский [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – №7. – С.12 – 14
25. Elenkov I.J The sympathetic nerve - an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system / I.J. Elenkov, R.L. Wilder, G.P. Chrousos [et al]. // Pharmacol. Rev. – 2010. – Vol. 52, № 4. – P. 595–638.
26. Gaykema R.P. Organization of immune-responsive medullary projections to the bed nucleus of the stria terminalis, central amygdala, and paraventricular nucleus of the hypothalamus: evidence for parallel viscerosensory pathways in the rat brain / R.P. Gaykema, C.C. Chen, L.E. Goehler [et al]. // Brain Res. – 2007. – Vol. 1130, № 1. – P. 130–145.
27. Meinardi M.T. Prospective evaluation of early cardiac damage induced by epirubicin-containing adjuvant chemotherapy and locoregional radiotherapy in breast cancer patients / M.T. Meinardi, D. J. Veldhuisen, J. A. Gietema [et al]. // J. Clin. Oncol. – 2001. – Vol.19, №10. – P. 246 – 253.
28. Хаитов Р.М. Иммуитет и стресс / Р.М.Хаитов, В.П.Лесков // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, №8. – С. 1060 – 1073.
29. Тендиткин М.В. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов иммунокомпетентных органов мышей под влиянием стресса. / М.В. Тендиткин, А.В. Шурлыгина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90, №12. – С.1522 – 1529.
30. Гололобова М.Т. Изменение митотической активности у крыс в зависимости от времени суток / М.Т. Гололобова // Бюллетень экспериментальной патологии и медицины. – 1988. – № 9. – С. 118 – 122.
31. Идова Г.В. Влияние субмессивного и агрессивного типов поведения на изменение числа Т-лимфоцитов CD4+ и CD8+ в костном мозге / Г.В. Идова, Т.А. Павина, Е.Л. Альперина [и др.] // Иммунология. – 2000. – №1. – С. 24 – 26.
32. Devries A.C. Stress affects corticosteroid and immunoglobulin concentration in male house mice / A.C. Devries, I.M. Gerber, H.N. Richardson [et al.] // Compar. Biochemistry. Physiol. – 2007. – Vol. 118. – P.655 – 663.
33. Полищук Н.А. К вопросу о сущности явления времени и эффективной хронотерапии хронических заболеваний / Н.А. Полищук // Лікарська справа – 2008. – № 1 – 2. – С.114 – 117.
34. Focan C. Marker rhythms for cancer chronotherapy. From laboratory animals to human being / C. Focan // In vivo. – 1995. – P. 283 – 298.
35. Suzuki T. Effect of muscular exercise on odrenal 17 – hydroxycorticosteroid secretion in the dog / T. Suzuki, O. Kensaki, M. Hideo [et. al.] // Endocrinology. – 1997. – Vol. 80. – № 6. – P. 1148 – 1151
36. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу./ К.В. Судаков – М.: Горизонт, 1998. – 317 с.

37. Худавердян Д.Н. О включении кальций-регулирующих гормонов кортикоза и электролитов крови в ранние приспособительные реакции организма / Д.Н. Худавердян, К.П. Аракеян // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т.88, №3. – С.381 – 386
38. Суркина И.Д. Изменение иммунитета при стрессе / И.Д. Суркина, З.С. Орлова, Г.С. Орлова // Физиология человека. – 1999. – №12. – С. 480 – 484.
39. Bhatia A.L. Study on pre-treatment of melatonin against radiation-induced oxidative stress in mice / A.L. Bhatia, Kailash Manda // J. Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2004. – № 18. – P. 13 – 20.
40. Sakakuramet al Ritmos circadianos en medicina alronautica. // Rev. alronaut. – 2007. –Vol. 37, № 435. – P.109 –118.
41. Mormont M. Marker rhythms of circadian system function: a study of patients with metastatic colorectal cancer and good performance status / M. Mormont, A.Langouot, B. Claustrat [et al]. // Chronobiol. Intern. – 2002. – Vol. 19. – P.141–155.
42. Haus E. Chronobiology of the Mammalian Response to Ionizing Radiation. Potential Applicatons in Oncology / E. Haus // Chronobiol. Int. – 2002. – Vol.19, № 1. – P.77 – 100.
43. Tischner D. Glucocorticoids in the control of neuroinflammation. / D. Tischner, H.M. Reichardt // Mol Cell Endocrinol. – 2007. – Vol.4. – P. 100 – 134.
44. Smaaland R. Rhythms in Human Bone Marrow and Blood Cells / R. Smaaland, R.B. Sothorn, O.D. Laerum [et al.] // Chronobiol. Intern. – 2002. – Vol.19, №1. – P.101–128.
45. Sideris D.A. The circadian profile of extrasistolic arrhythmia: its relationship to heart rate and blood pressure. / D.A. Sideris, S.T. Toumaning, M. Anastasio-Nama [et al.] // Intern J. Cardiol. – 1992. – Vol. 34. – P. 21 – 33.
46. Kelley K.W. Cytokine-induced sickness behavior / K.W. Kelley, R.M. Bluthé, R.Dantzer, [et al.] // Brain Behav. Immun. – 2003. – Vol.17, № 1. – P. S112 – S118.

Кузьменко О.В. Сучасні уявлення о проявах механізмів психоемоційного стресу / О.В. Кузьменко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 95-106.

Представлено дані про прояви психоемоційного стресу. Обговорюються механізми індивідуальних особливостей психоемоційного стресу. Розглядаються різні індивідуальні біоритмологічні особливості організму.

Ключові слова: стрес, біологічні ритми, імунна система.

Kusmenko E.V. Modern ideas about the manifestations of mechanisms of psycho-emotional stress / E.V. Kusmenko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 95-106.

Presented data on modern representations of the manifestations of psycho-emotional stress. The mechanisms of individual features of psycho-emotional stress. Examines the various individual biological rhythms characteristics of an organism.

Keywords: stress, biological rhythms, the immune system.

Поступила в редакцію 18.04.2013 г.

УДК 612.65 : 616-056.216

ВЗАИМОСВЯЗЬ ТЕМПЕРАМЕНТА ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ ТРЕХ ЛЕТ ЖИЗНИ С ИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ

Куленкова А.А., Павленко В.Б.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: anna.kulenkova@gmail.com*

В статье приведен обзор современных исследований, посвященных изучению особенностей ранних индивидуальных различий темперамента. Проведен мета-анализ связей между индивидуальными особенностями темперамента, паттерном электроэнцефалограммы и различиями в вегетативной регуляции сердца у детей первых лет жизни.

Ключевые слова: электроэнцефалограмма, вариабельность сердечного ритма, темперамент, дети.

ВВЕДЕНИЕ

Особенности протекания эмоциональных процессов являются главной характеристикой темперамента. Как известно, индивидуальные различия в поведении и эмоциональных ответах проявляются в первые годы жизни, имеют биологическую основу и стабильны во времени [1]. В раннем детстве ребенок обладает большой чувствительностью и пластичностью нервной системы, высоким уровнем компенсаторных возможностей, особенно податлив к психологической коррекционной помощи [2]. Поэтому определение характеристик личности, основанных на свойствах нервных процессов (темперамента), на данном возрастном этапе имеет свои преимущества.

В последние годы многих исследователей интересует физиологическая основа регуляции поведения и эмоций у маленьких детей. В связи с этим распространенным стало использование нейро- и психофизиологических методов в исследованиях детей возрастом от нескольких месяцев [3]. Электроэнцефалографию и электрокардиографию считают двумя наиболее предпочтительными физиологическими методами исследования детей, так как они являются неинвазивными и относительно устойчивыми к двигательным артефактам [4]. Несмотря на значительное число работ в этой области, вопрос о связях физиологических показателей с индивидуальными особенностями темперамента детей в значительной степени остается открытым.

С учетом этого в данном обзоре мы попытались обобщить некоторые результаты исследований, посвященных выявлению связей между характеристиками темперамента и показателями электрической активности головного мозга, характеристиками темперамента и вегетативной регуляцией сердца.

1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ТЕМПЕРАМЕНТЕ ДЕТЕЙ

Эмоциональные реакции, например, страдание или радость, можно уверенно выделять уже у младенцев (возраст от рождения до года). Однако у детей до года способность к саморегуляции поведения ограничена, и требуется время для ее развития [5,6]. Младенческий темперамент определяют как «...индивидуальные различия в эмоциональной и двигательной активностях, процессах внимания, реактивности, поведенческой саморегуляции» [7]. Такие индивидуальные различия относительно стабильны, опосредуют проявления тех стратегий поведения, которые способствуют адаптации на ранних стадиях развития [8]. Современные концепции рассматривают темперамент раннего возраста (от одного до трех лет) как индивидуальные различия в эмоциональных реакциях и в способности регулировать эти реакции [6]. Ранние различия в характеристиках темперамента способствуют формированию у ребенка индивидуальных моделей взаимодействия с окружающим миром, что может оказывать влияние на дальнейшее социальное и эмоциональное развитие [9].

В литературе существует ряд теоретических подходов, описывающих природу и структуру ранних индивидуальных различий темперамента [10]. Большинство из них предполагает, что структура черт темперамента детей многомерна, но нет единого мнения о количестве и содержании его первичных характеристик. Одним из современных подходов к детскому темпераменту считают теорию Rothbart М. [11]. В рамках данной теории темперамент определяют как основу индивидуальных различий в реактивности и саморегуляции [10]. Rothbart М. выделяет три суперчерты темперамента, каждая из которых включает в себя ряд психологических черт:

1) Высокий или низкий уровень сургенсии (экстраверсии) – определяется в первую очередь уровнем положительной эмоциональности и включает в себя с положительным весом шкалы: «поведенческое приближение», «предвосхищение положительных эмоций», «удовольствие от новых ситуаций», «уровень активности», «импульсивность» и «коммуникабельность» [12].

2) Высокий или низкий уровень негативной аффективности включает в себя с положительным весом следующие черты: «застенчивость», «дискомфорт», «страх», «разочарование», «печаль», «двигательную активацию», «чувствительность восприятия», «застенчивость»; с отрицательным весом: «уровень утешаемости».

3) Высокий или низкий самоконтроль включает в себя с положительным весом: «поведенческое торможение» и «переключаемость внимания»; с отрицательным весом: «удовольствие от привычных ситуаций» и «прижимание» [13].

В процессе развития у детей изначально высоко реактивные системы становятся все более регулируемы. Высокий или низкий уровень сургенсии и негативной аффективности определяют реактивность темперамента, а самоконтроль служит для регуляции реактивности.

Уровень сургенсии, негативной аффективности, и самоконтроля в теории Rothbart М. сопоставимы с такими факторами личности взрослого человека как, экстраверсия, нейротизм, и сдержанность/сознательность (Constraint/Conscientiousness) [14,15].

Опросники для определения темперамента в рамках теоретической модели Rothbart М. были разработаны для разных возрастных периодов – от младенческого до взрослого [10,16,15,17,12,18].

Существует и другой подход к детскому темпераменту, который ориентируется не на общую эмоциональность, а на лежащие в ее основе мотивационные системы, которые определяют поведение ребенка. Согласно данному подходу, «поведенческое приближение» и «избегание» определяют темперамент у детей в первые годы жизни [19,20]. При этом, радость, удовольствие, счастье и удивление, классифицируются как эмоции «поведенческого приближения», так как они указывают на приближение человека к внешним раздражителям. С другой стороны, печаль, страх и отвращение (раздражение) связаны с «поведенческим избеганием», поскольку они направлены на удаление от источников раздражающих внешних стимулов [19].

2. ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПАТТЕРНОМ ЭЭГ И ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ТЕМПЕРАМЕНТА У ДЕТЕЙ ВОЗРАСТОМ ДО ТРЕХ ЛЕТ

Электроэнцефалография позволяет судить о функциональном состоянии мозга по изменению основных ритмов электрической активности. При этом электроэнцефалограмма (ЭЭГ) младенцев и детей раннего возраста включает те же ритмы, что и у взрослых, которые отличаются лишь более низкой частотой [21,22].

Согласно данным литературы, существует связь между показателями ЭЭГ и индивидуальными особенностями темперамента у детей. Была отмечена роль префронтальной коры в формировании психологических особенностей личности, в том числе в формировании темперамента у младенцев и детей раннего возраста [23,24,25]. Важным показателем взаимосвязи между активностью префронтальной коры и особенностями темперамента считают показатель фронтальной ЭЭГ-асимметрии в диапазоне альфа-ритма [26,27]. Этот показатель является связующим звеном между социальными, поведенческими, психологическими и клеточными механизмами, лежащими в основе взрослого и детского темперамента [28]. Было обнаружено, что у детей стабильная фронтальная ЭЭГ-асимметрия между девятым и 24 месяцем жизни коррелирует с высоким уровнем «страха» и «поведенческого торможения» [29]. В дальнейших исследованиях было выявлено, что правая фронтальная ЭЭГ-активация положительно коррелирует с уровнем негативной аффективности и «двигательной активации» у младенцев [30] и отрицательно – с «импульсивностью» у детей раннего возраста [31]. Отмечалось также, что у младенцев активация средней и боковой фронтальной коры в левом полушарии положительно коррелирует с чертами темперамента – «поведенческим приближением», «утешаемостью», «чувствительностью восприятия», «страданием» и «страхом» [32]. Как видно эти данные частично противоречат общепринятым представлениям о связи между характером фронтальных асимметрий и знаком эмоций.

В недавних работах было выявлено, что у детей раннего возраста связанные с задачей изменения мощности ЭЭГ частотой 6-9 Гц положительно коррелировали с чертой темперамента «поведенческое торможение» [33].

В ряде лонгитюдных исследований было показано, что фронтальная ЭЭГ-асимметрия в младенчестве связана с показателями темперамента у детей в более старшем возрасте. Было выявлено, что у девятимесячных детей правая лобная ЭЭГ-асимметрия положительно коррелировала с «поведенческим торможением» в 14-

месячном и двухлетнем возрасте [30]. Kim K. и Bell M. [31] обнаружили, что правая лобная ЭЭГ-асимметрия у детей в раннем детстве отрицательно коррелирует с уровнем сургенсии и «импульсивности» в возрасте восьми лет.

Интересные результаты были получены авторами [34], изучавшими в лонгитюдном исследовании то, каким образом индивидуальные особенности характеристик темперамента в младенчестве могут предполагать показатели асимметрии и спектральной мощности ритмов ЭЭГ у детей в более старшем возрасте. Было выявлено, что высокая «коммуникабельность» детей в младенчестве была связана в 10-12-летнем возрасте с высокой мощностью альфа-ритма (8-13 Гц) и правой лобной активацией у мальчиков, но с высокой мощностью бета-ритма (14-30 Гц) и правой лобной активацией у девочек. В этом же исследовании у детей в 10-12-летнем возрасте снижение мощности альфа-ритма в правой фронтальной области по сравнению с левой наблюдалось у тех, кто демонстрировал высокий уровень реактивности в четырехмесячном возрасте и высокий уровень «страха» в 14 и 21-месячном возрасте. Другие исследователи [30] обнаружили, что у детей с высоким уровнем негативной аффективности и «двигательной активности» в четырехмесячном возрасте наблюдалась правая фронтальная ЭЭГ активация в 9 месяцев.

В исследовании регуляции эмоций у детей в рамках модели «поведенческого приближения-избегания» предполагалось, что эмоциональное поведение связано с балансом активности в левой и правой лобных областях мозга. Было обнаружено, что у 10-месячных младенцев и детей раннего возраста, эмоции «поведенческого приближения» (радость, удовольствие, счастье), связаны с большей активацией коры в левой лобной области мозга, а эмоции «поведенческого избегания» (отвращение, страх), связаны с большей активацией коры в правой лобной области мозга [35,36].

Таким образом, данные литературы подтверждают, что индивидуальные особенности темперамента у маленьких детей отражаются в паттерне ЭЭГ. Работы, посвященные изучению связей между индивидуальными особенностями детского темперамента и показателями ЭЭГ, остаются на сегодняшний день немногочисленными, причем большинство исследований сконцентрированы на связях характеристик детского темперамента со значениями фронтальной ЭЭГ-асимметрии.

3. ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ СЕРДЦА И ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ТЕМПЕРАМЕНТА У ДЕТЕЙ ВОЗРАСТОМ ДО ТРЕХ ЛЕТ

Согласно данным литературы наблюдается существенная связь между поведенческими реакциями, способностью регулировать эмоции и поведение и различиями в физиологической регуляции сердца, в частности с деятельностью вегетативной нервной системы у детей раннего возраста.

Kagan J. и коллеги [37] показали, что существует связь между «поведенческим торможением» и периферическими физиологическими процессами, которые происходят за счет активации лимбических структур, особенно в миндалине и гипоталамусе. Ими было выявлено, что «поведенческое торможение» у детей связано с гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системой, ретикулярной активирующей системой, и симпатической ветвью вегетативной нервной системы.

В свою очередь Porges S., рассматривая физиологическую основу системы «поведенческого приближения-избегания», пришел к выводу, что симпатическая модуляция – необязательный компонент. Он предполагает, что созревание парасимпатической нервной системы у детей лежит в основе повышения способности к саморегуляции двигательной активности и эмоций [38, 39], а именно – активность блуждающего нерва осуществляет модуляцию движений и эмоций, а также сопутствующих им изменений сердечного ритма. Другие авторы парасимпатическую регуляцию сердечной деятельности связывают с регуляцией эмоций [40], а симпатическую с возбуждением, умственной напряженностью, нечувствительность к награде, а в некоторых контекстах, с «поведенческим приближением» и «избеганием» [41].

Методы изучения сердечной деятельности часто используются в исследованиях с участием маленьких детей. Было отмечено, что частота сердечного ритма постепенно уменьшается в течение первого года жизни [42].

Ряд исследователей изучали взаимосвязь между тонусом блуждающего нерва и индивидуальными особенностями эмоционального статуса у детей раннего возраста. Тонус блуждающего нерва является физиологическим показателем влияния парасимпатической нервной системы на сердце, что в свою очередь может предполагать ряд эмоциональных стилей поведения у новорожденных, детей и взрослых [43,44,45]. Данный показатель был предложен в качестве стабильного биологического маркера способности поддерживать внимание и регулировать эмоции [38,39].

Обзор исследований тонуса блуждающего нерва у детей позволяет предположить, что вагусная активность связана с социоэмоциональным развитием. Так, на пятом месяце жизни младенцы с высоким тонусом блуждающего нерва были высоко реактивными как по отношению к позитивным, так и к негативным событиям [44]. Также было показано, что высокий тонус блуждающего нерва связан с большей выраженностью отрицательных эмоций и более проблемным поведением [46,47]. В свою очередь снижение тонуса блуждающего нерва во время сложных ситуаций связано с лучшим состоянием регуляции, самоуспокоением и контролем внимания в младенчестве [48,49,50,51].

Функционирование парасимпатической нервной системы также отражается в вариабельности сердечного ритма связанной с ритмом дыхания (респираторная синусовая аритмия, RSA). Фоновая RSA была предложена в качестве показателя индивидуального уровня возбуждения и способности к активному взаимодействию с окружающей средой [52]. В период младенчества и раннего детства высокая фоновая RSA была связана с более высоким уровнем реактивности темперамента [41]. Также было выявлено, что фоновая RSA у детей в двухлетнем возрасте положительно коррелировала с уровнем сургенсии и негативной аффективности в возрасте четырех, пяти и семи лет [9].

Таким образом, результаты исследований подтверждают связь между вегетативной регуляцией сердечной деятельности и некоторыми особенностями темперамента у младенцев и детей раннего возраста. Однако, необходимы дальнейшие исследования для разработки подробного понимания связей между

вегетативной регуляцией деятельности сердца и индивидуальными особенностями темперамента у маленьких детей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Характеристики личности, основанные на свойствах нервных процессов (темперамента), проявляются в первые годы жизни. Современные концепции детского темперамента рассматривают его как индивидуальные различия в эмоциональных реакциях и в способности регулировать эти реакции.
2. Литературные данные подтверждают связь между характеристиками темперамента и показателями электрической активности головного мозга, характеристиками темперамента и вегетативной регуляцией сердца. Однако работы в этой области немногочисленны и, в значительной степени, противоречивы. Актуальным остается выявление характера взаимосвязей между паттерном ЭЭГ, вегетативной регуляцией сердца и характеристиками темперамента у детей возрастом от одного до трех лет.

Список литературы

1. Roundtable: What is temperament? / H. H. Goldsmith, A. H. Buss, R. Plomin [et al.] // *Child Dev.* – 1987. – Vol. 58. – P. 505–529.
2. Ильина М. Н. Психологическая оценка интеллекта у детей / М. Н. Ильина. – СПб.: Питер, 2006. – 368 с.
3. Cuevas K. EEG and ECG from 5 to 10 Months of Age: Developmental Changes in Baseline Activation and Cognitive Processing During a Working Memory Task / K. Cuevas, M. A. Bell // *Int. J. Psychophysiol.* – 2011. – Vol. 80, No 2. – P. 119–128.
4. Casey B. J. Introduction: new methods in developmental science / B. J. Casey, M. de Haan // *Dev Sci.* – 2002. – Vol. 5. – P. 265–267.
5. Rueda M. R. The development of executive attention: Contributions to the emergence of selfregulation/ M. R. Rueda, M. I. Posner, M. K. Rothbart // *Dev. Neuropsychol.* – 2005. – Vol. 28. – P. 573–594. (2005).
6. Martinos M. Links between infant temperament and neurophysiological measures of attention to happy and fearful faces / M. Martinos, A. Matheson, M. de Haan // *J. Child Psychol. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 53, No 11. – P. 1118–1127.
7. Rothbart M.K. Temperament, development, and personality / M. K. Rothbart // *Curr. Dir. Psychol. Sci.* – 2007. – Vol. 16. – P. 207–212.
8. Henderson H. A. Temperament theory and the study of cognition-emotion interactions across development / H. A. Henderson, T. D. Wachs // *Dev. Rev.* – 2007. – Vol. 27. – P. 396–427.
9. Contributions of child's physiology and maternal behavior to children's trajectories of temperamental reactivity / A. Y. Blandon, S. D. Calkins, S. P. Keane [et al.] // *Dev. Psychol.* – 2010. – Vol. 46, No 5. – P. 1089–1102.
10. Rothbart M.. K.. Measurement of temperament in infancy / M. K. Rothbart // *Child Dev.* – 1981. – Vol. 52. – P. 569–578.
11. Zentner M. Child temperament: an integrative review of concepts, research programs, and measures / M. Zentner, J. E. Bates // *EJDS* – 2008. – Vol. 2, No. 1/2. – P. 7–37.
12. Investigations of temperament at 3-7 years: The children's behavior questionnaire / M. K. Rothbart, S. A. Ahadi, K. L. Hershey [et al.] // *Child Dev.* – 2001. – Vol. 72. – P. 1394–1408.
13. Posner M. I. Research on attention networks as a model for the integration of psychological science / M. I. Posner, M. K. Rothbart // *An. Rev. of Psychol.* – 2007. – Vol. 58. – P. 1–23.
14. Digman J. M. Personality structure: Emergence of the five-factor model / J. M. Digman // *An. Rev. of Psychol.* – 1990. – Vol. 41. – P. 417–440.

15. Putnam S. P. Measurement of fine-grained aspects of toddler temperament: The early childhood behavior questionnaire / S. P. Putnam, M. A. Gartstein, M. K. Rothbart // *Inf. Behavior and Dev.* – 2006. – Vol.29. – P. 386–401.
16. Gartstein M. A. Studying infant temperament via the Revised Infant Behavior Questionnaire / M. A. Gartstein, M. K. Rothbart // *Inf. Behavior and Dev.* – 2003. – Vol. 26, No 1. – P. 64–86.
17. Putnam, S. P. Development of Short and Very Short forms of the Children's Behavior Questionnaire / S. P. Putnam, Rothbart M. K. // *J. Pers. Assess.* – 2006. – Vol. 87, No 1. – P. 103–113.
18. Derryberry D. Arousal, affect, and attention as components of temperament / D. Derryberry, M. K. Rothbart // *JSPS.* – 1988. – Vol. 55. – P. 958–966.
19. Frontal activation asymmetry and social competence at four years of age / N. A. Fox, K. H. Rubin, S. D. Calkins [et al.] // *Child. Dev.* – 1995. – Vol. 66. – P. 1770–1784.
20. Behavioral reactivity and approach-avoidance bias in infancy / A. A. Hane, N. A. Fox, H. A. Henderson [et al.] // *Dev. Psychol.* – 2008. – Vol. 44, No 5. – P. 1491–1496.
21. Bell M. A. Power changes in infant EEG frequency bands during a spatial working memory task / M. A. Bell // *Psychophysiol.* – 2002. Vol. 39. – P. 450–458.
22. Stroganova T. A. EEG alpha rhythm in infants / T. A. Stroganova, E. V. Orekhova // *Clinical Neurophysiol.* – 1999. – Vol. 10. – P. 997–1012.
23. Bell M. A. The relations between frontal brain electrical activity and cognitive development during infancy / M. A. Bell, N. A. Fox // *Child. Dev.* – 1992. – Vol. 63. – P. 1142–1163.
24. Coan J. A. A capability model of individual differences in frontal EEG-asymmetry / J. A. Coan, J. J. B. Allen, P. E. McKnight // *Biol. Psychol.* – 2006. – Vol. 72. P. 198–207.
25. Marshall P. J. Development of the EEG from 5 months to 4 years of age / P. J. Marshall, Y. Bar-Haim, N. A. Fox // *Clin. Neurophysiol.* – 2002. – Vol. 113. – P. 1199–1208.
26. Davidson R. J. Affective style and affective disorders: Perspectives from affective neuroscience / R. J. Davidson // *Cognition and Emotion* – 1998. – Vol. 12. P. 370–330.
27. Henderson H. A. Temperamental contributions to social behavior: The moderating roles of frontal EEG asymmetry and gender / H. A. Henderson, N. A. Fox, K. H. Rubin // *J. Am. Acad. Child. Psy.* – 2001. – Vol. 40. – P. 68–74.
28. Anderson N. B. Making the case for psychophysiology during the era of molecular biology / N. B. Anderson, P. A. Scott // *Psychophysiol.* – 1999. – Vol. 36. – P. 1–13.
29. Fox N. A. Neural plasticity and development in the first two years of life: evidence from cognitive and socioemotional domains of research / N. A. Fox, S. D. Calkins, M. A. Bell // *Dev. and Psychopathol.* – 1994. – Vol. 6. – P. 677–696.
30. Calkins S. D. Behavioral and physiological antecedents of inhibited and uninhibited behavior / S. D. Calkins N. A. Fox, T. R. Marshall // *Child Develop.* – 1996. – Vol. 67. – P. 523–540.
31. Kim K. J. Frontal EEG asymmetry and regulation during childhood / K. J. Kim, M. A. Bell // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1094. – P. 308–312.
32. Prefrontal Asymmetry and parent-rated temperament in infants / V. LoBue, J. A. Coan, C. Thrasher [et al.] // *PLoS One* – 2011. – Vol 6(7): e22694.
33. Morasch K. C. The role of inhibitory control in behavioral and physiological expressions of toddler executive function / K. C. Morasch, M. A. Bell // *J. of Experiment. Child Psychol.* – 2011. – Vol. 108. – P. 593-606.
34. EEG asymmetry, power, and temperament in children / M. H. McManis, J.Kagan, N. C. Snidman [et al.] // *Dev. Psychobiol.* – 2002. – Vol. 41. P. 169–177.
35. Davidson R. J. Asymmetrical brain activity discriminates between positive and negative affective stimuli in human infants / R. J. Davidson, N. A. Fox // *Science* – 1982. – Vol. 218. – P. 1235–1237.
36. Davidson R. J. Emotion and affective style: Hemispheric substrates / R. J. Davidson // *Psychol. Sci.* – 1992. – Vol. 3. – P. 39–43.
37. Kagan J. The physiology and psychology of behavioral inhibition in children / J. Kagan, J. S. Reznick, N. Snidman // *Child Dev.* – 1987. – Vol. 58. P. 1459–1473.
38. Porges S. W. The polyvagal theory: Phylogenetic substrates of a social nervous system / S. W. Porges // *Int. J. of Psychophysiol.* – 2001. – Vol. 42. P. 123–146.
39. Porges S. W. The Polyvagal Theory: Phylogenetic contributions to social behavior / S. W. Porges // *Physiol. and Behav.* – 2003. – Vol. 79. – P. 503–513.

40. Berntson G. G. Autonomic cardiac control. I. Estimation and validation from pharmacological blockades / G. G. Berntson, J. T. Cacioppo, K. S. Quigley // *Psychophysiol.* – 1994. – Vol. 31, No 1. – P. 44–61.
41. Disinhibitory psychopathology in male adolescents: Discriminating conduct disorder from attention-deficit/hyperactivity disorder through concurrent assessment of multiple autonomic states / T. P. Beauchaine, E. S. Katkin, Z. Strassberg [et al.] // *J. of Abnorm. Psychol.* – 2001. – Vol. 110. – P. 610–624.
42. Bar-Haim Y. Developmental changes in heart period and high-frequency heart period / Y. Bar-Haim, P. J. Marshall, N. A. Fox // *Dev. Psychobiol.* – 2000. – Vol. 37. – P. 44–56.
43. Movius H. L. Cardiac vagal tone, defensiveness, and motivational style / H. L. Movius, J. J. B. Allen // *Biol. Psychol.* – 2005. – Vol. 68. – P. 147–162.
44. Fox N. A. Psychophysiological correlates of emotional reactivity during the first year of life / N. A. Fox, A. Nathan // *Dev. Psychol.* – 1989. – Vol 25, No 3. – P. 364–372.
45. Davidson R. J. Emotion, plasticity, context, and regulation: Perspectives from affective neuroscience / R. J. Davidson, D. C. Jackson, N. H. Kalin // *Psychol. Bulletin* – 2000. – Vol. 126. P. 890–909.
46. Individual differences in emotion regulation and behavior problems in preschool children / P. M. Cole, C. Zahn-Waxler, N. A. Fox [et al.] // *J. of Abnorm. Psychol.* – 1996. – Vol. 105. – P. 518–529.
47. The role of emotionality and regulation in children's social functioning: A longitudinal study / N. Eisenberg, R. A. Fabes, B. Murphy [et al.] // *Child Develop.* – 1995. – Vol. 66. – P. 1360–1384.
48. Stifter C. A. Regulation and observed social behavior in infancy / C. A. Stifter, J. M. Corey // *Soc. Develop.* – 2001. – Vol. 10, No 2. – P. 189–201.
49. Stifter C. A. Psychophysiological correlates of infant temperament: stability of behavior and autonomic patterning from 5 to 18 months / C. A. Stifter, A. Jain // *Dev. Psychobiol.* – 1996. – Vol. 29, No 4. – P. 379–391.
50. Infant temperament and cardiac vagal tone: Assessments at twelve weeks of age / L. C. Huffman, Y. E. Bryan, R. Carmen [et al.] // *Child Develop.* – 1998. – Vol. 69. – P. 624–635.
51. Moderate vagal withdrawal in 3.5-year-old children is associated with optimal performance on executive function tasks / S. Marcovitch, J. Leigh, S. D. Calkins [et al.] // *Dev. Psychobiol.* – 2010. – Vol. 52, No 6. – P. 603–608.
52. Calkins S. D. Cardiac vagal tone indices of temperamental reactivity and behavioral regulation in young children / S. D. Calkins // *Develop. Psychobiol.* – 1997. – Vol. 31. – P. 125–135.

Куленкова Г. А. Взаємозв'язок темпераменту дітей перших трьох років життя з їх фізіологічними особливостями / Г.А. Куленкова, В.Б. Павленко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 107-114.

У статті наведено огляд сучасних досліджень, присвячених вивченню особливостей ранніх індивідуальних відмінностей темпераменту. Проведено мета-аналіз зв'язків між індивідуальними особливостями темпераменту, патерном електроенцефалограми і відмінностями у вегетативній регуляції серця у дітей перших років життя.

Ключові слова: електроенцефалограма, варіабельність серцевого ритму, темперамент, діти.

Kulenkova H.A. Physiological correlates of children's temperament in the course of the first 3 years of life / H.A. Kulenkova, V.B. Pavlenko // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 107-114.

This article reviews the data of the modern studies related to the early individual differences in temperament. There have been presented the meta-analysis of the correlations between individual peculiarities of temperament, patterns of electroencephalogram and differences of autonomic regulation of heart in the children during the first years of life.s. A higher seed production rates in the steppe zone of Ukraine were revealed in the species from colder habitats.

Keywords: electroencephalogram, heart rate variability, temperament, children.

Поступила в редакцію 14.05.2013 г.

УДК 616.155.392: 577.112.85

СПІВВІДНОШЕННЯ ГЛІКОФОРМ ФІБРОНЕКТИНУ ТА α -1 КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА МІЄЛО- ТА ЛІМФОЛЕЙКОЗИ

Маслак Г.С., Костюк О.В., Кулініч А.О., Машейко І.В., Бразалук О.З.

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

Досліджено глікозильованість мінорного типу α -1 кислого глікопротеїну та фібронектину плазми крові хворих із мієло- та лімфолейкозами. В роботі використані лектини канавалії мечовидної, сочевиці - LcL та бузини чорної – SNA. Встановлено, що в плазмі хворих на мієлолейкоз переважають глікоформи фібронектину, що мають біантенні послідовності та підвищується рівень глікоформ α -1 кислого глікопротеїну із коровим триманозидом, що $\alpha(1\rightarrow6)$ фукозильований в порівнянні із плазмою хворих на лімфолейкоз. Показано, що співвідношення глікоформ α -1 кислого глікопротеїну можна використовувати для диференцировки лімфолейкозів та мієлолейкозів.

Ключові слова: α -1 кислий глікопротеїн, фібронектин, глікозильованість, лектини, лімфолейкози, мієлолейкози.

ВСТУП

Глікобіологічні дослідження останніх десятиріч свідчать про роль перерозподілу глікоформ білків в розвитку будь-якого патологічного процесу. Наприклад, один із гострофазових білків α -1 кислий глікопротеїн (АГП) має близько половини (41-45%) вуглеводної складової та є одним із високоглікозильованих білків плазми крові. Він містить 5 потенційних сайтів глікозилювання із N-гліканами комплексного типу, які різняться за ступенем розгалуженості, фукозильованості та сіальованості, що обумовлює існування у здорової людини 12-20 глікоформ цього білку [1]. Збільшення вмісту тих чи інших глікоформ АГП показано в плазмі при різних захворюваннях та може впливати на розвиток патологічного процесу в цілому. Наприклад, глікоформи амніотичного АГП, що мають $\alpha 1,3$ - та $\alpha 1,2$ -зв'язану фукозу модулюють процеси гострофазових реакцій [2], а три- та тетраантенні гліканові гілки із α -1-3 фукозою в їх складі приймають участь у різних процесах [3]. Отже, структурні модифікації вуглеводної частки глікопротеїнів часто впливають на їх функціональну активність та можуть слугувати діагностичним або прогностичним критерієм. Причому, нерідко не має значення, яку частину глікопротеїну складає вуглеводний компонент: майже половину, як у випадку АГП чи незначну, як у високомолекулярного глікопротеїна - фібронектина (ФН). Внесок вуглеводної частки у якого складає 5-9 відсотків від загальної маси, а посттрансляційна модифікація та альтернативний сплайсинг забезпечують існування великої кількості ізоформ [4]. Цей глікопротеїн має таку ж кількість (5-7) потенційних сайтів N-глікозилювання як і АГП. А N-глікани, за

даними Tajiri, представлені бі- чи три-антенними вуглеводними детермінантами та можуть мати у своєму складі корову фукозу [1]. Показано, що поява глікоформ ФН із α -1-2-зв'язаною фукозою свідчить про розвиток запального процесу та виявлена у хворих із пухлинним та запальними процесами [5, 6].

Відомо, що лейкози за морфологією злоякісних клітин традиційно поділяють на мієло- та лімфолейкози, які характеризуються заміщенням нормального кістковомозкового кровотворення клональними проліфератами, що складаються з менш диференційованих і функціонально неактивних клітин. [7]. Не дивлячись на те, що в медичну практику постійно впроваджуються нові методи діагностики з точки зору морфології та імуностатусу клітин крові, досі залишаються відкритими питання розуміння змін глікозильованості або співвідношення глікоформ білків плазми, що супроводжують дані захворювання.

Метою роботи є порівняння глікоформ плазмових АГП та фібронектину за умов лімфо- та мієлопроліферативних процесів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Матеріалом дослідження була плазма крові хворих на мієлолейкози–група I (n = 20) та лімфолейкози–група II (n = 20) у віці 58-66 років. Групу контролю склали гематологічно здорові волонтери (n = 20) у віці від 55 до 65 років.

Клінічне обстеження пацієнтів проводили у відповідності зі стандартами медичної допомоги в умовах спеціалізованого стаціонару - гематологічного відділення комунального закладу «Міська багатопрофільна клінічна лікарня № 4», м. Дніпропетровськ. Всі обстежувані в письмовому вигляді давали згоду на участь у дослідженні.

Глікозильованість ФН та АГП вивчали методом лектин-ферментного аналізу з використанням антитіл до ФН та АГП плазми, що були деглікозильовані за допомогою N-Glycosidase F (US Biological, США). Відсутність вуглеводів у складі деглікозильованих імуноглобулінів, їх афінність та специфічність перевіряли лектин- та імунодот-аналізом. Використовували лектини канавалії мечовидної – Con A (Лектинотест, Україна), сочевиці - LcL (Лектинотест, Україна), бузини чорної - SNA (Лектинотест, Україна). Для контролю специфічності зв'язування лектинів із вуглеводними детермінантами ФН та АГП у реакційну суміш додавали відповідні моносахариди-інгібітори у концентрації 0,1 моль/л. Всі зразки були продубльовані. Для аналізу лектин-зв'язуючої активності (реактивності) фібронектину, цей білок вносили по 200нг в лунку, а АГП – по 500нг в лунку. Результати виражали в абсолютних одиницях (AU) як різниця Δ 405 нм величини абсорбції між оптичною щільністю зразка та відповідними значеннями поглинання лунки. Концентрацію ФН та АГП у плазмі визначали методом імунодоту з використанням поліклональних кролячих антитіл до ФН та АГП, відповідно. Отримані результати відцифрували за допомогою програми GelProAnalyser 32.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета програм Statistics 6.0. Достовірність відмінностей в групах досліджуваних встановлювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Реактивність як АГП так і фібронектина до лектину канавалії мечовидної (Con A) відрізнялась при онкопроліферативних захворюваннях в порівнянні із групою гематологічно здорових донорів. Так, якщо в нормі реактивність АГП та фібронектина до Con A складала $0,97 \pm 0,34AU$ та $0,53 \pm 0,12AU$, відповідно, то у хворих із мієлолейкозами АГП реактивність до Con A достовірно ($p < 0,01$) знижувалась до значень $0,5 \pm 0,15AU$ та підвищувалась ($p < 0,05$) до рівня $0,79 \pm 0,3AU$ для фібронектина (див.рис.1). В групі хворих на лімфолейкози визначалась достовірна ($p < 0,05$) різниця між Con A-зв'язуванням фібронектина в порівнянні з нормою: реактивність ФН до Con A знижувалась до значень $0,28 \pm 0,06AU$. Слід відзначити, що існувала різниця між показниками, отриманими для фібронектина та АГП в групі I та в групі II. При мієлолейкозах, реактивність АГП до Con A була нижчою, ніж в групі хворих на лімфолейкози, а реактивність ФН до Con A навпаки достовірно ($p < 0,01$) зростала в 2,8 разів.

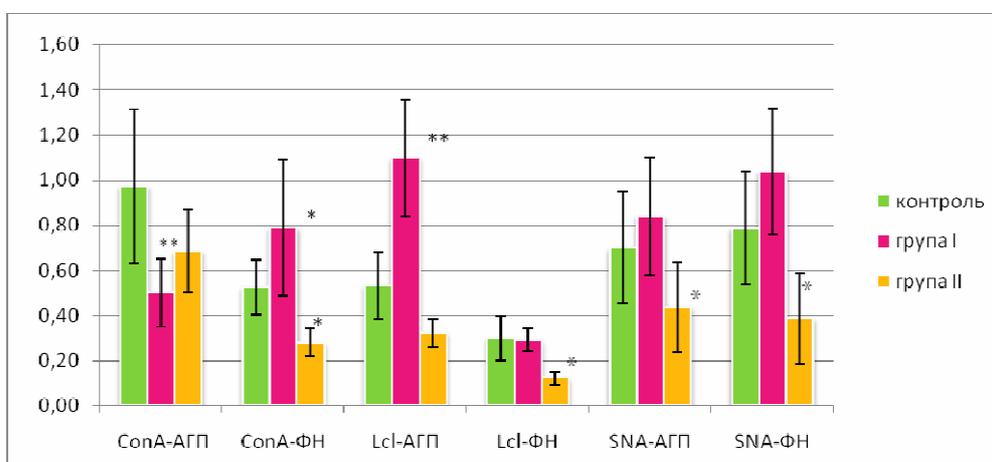


Рис. 1. Реактивність α -1 кислого глікопротеїну та фібронектину до лектину канавалії мечовидної – Con A (Con A-АГП та Con A-ФН, відповідно), лектину сочевиці - LcL (LcL-АГП та LcL-ФН, відповідно), лектину бузини чорної - SNA (SNA-АГП та SNA-ФН, відповідно) в розрахунку на 200нг фібронектину або 500нг АГП внесеного в лунку.

Примітка: * - вірогідна різниця у порівнянні із нормою при $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$.

Значні відмінності в зв'язуванні АГП із лектином сочевиці (LcL) були визначені в групі хворих на мієлолейкози (див.рис.1). Так, якщо в нормі та за умов лімфолейкозу реактивність АГП до LcL складала $0,53 \pm 0,15AU$ та $0,32 \pm 0,06AU$, відповідно, то при мієлолейкозі це значення було значно вищим $1,12 \pm 0,26AU$ ($p < 0,01$). В свою чергу показник реактивності фібронектину до LcL в групі хворих на мієлолейкоз не відрізнявся від норми та дорівнював $0,29 \pm 0,26AU$, в той час як в плазмі хворих на лімфолейкоз він знижувався до значень $0,12 \pm 0,03AU$. Порівняльний аналіз показав різницю в LcL-зв'язуючій активності АГП та

фібронектину в досліджуваних групах. Так, за умов мієлолейкозу, реактивність АГП та фібронектину до LcL була вище в 3,4 та 2,4 рази ($p < 0,01$), відповідно ніж в групі хворих на лімфолейкози.

Реактивність α -1 кислого глікопротеїну та фібронектину до лектину бузини чорної (SNA) в нормі складала $0,7 \pm 0,25$ AU та $0,79 \pm 0,26$ AU, відповідно (див.рис.1). Цей показник достовірно знижувався ($p < 0,05$) в групі хворих на лімфолейкоз і складав $0,44 \pm 0,2$ AU та $0,39 \pm 0,2$ AU, відповідно. Між групами I та II теж існувала достовірна різниця. Так за умов мієлолейкозу SNA-реактивність як АГП так і фібронектина була вище в 1,9 та 2,7 рази, відповідно, ніж в групі хворих на лімфолейкоз.

Співвідношення глікоформ АГП та фібронектину, які є реактивними до ConA (афінний до корової манозу біантенних N-гліканів), фукозоспецифічного LcL (має спорідненість до N-гліканів з коровою фукозою) та сіалоспецифічного лектину SNA (взаємодіє із $\alpha(2 \rightarrow 6)$ -сіаловими кислотами біантенних N-гліканів)(8) було розраховано в нормі та за умов онкопроліферативних процесів. Так, для фібронектину співвідношення реактивності ConA/LcL/SNA складало в контрольній групі: 33/18/49 та значно не відрізнялось за умов онкопроліферативних процесів: в групі I складало 37/14/49 та в групі II – 36/15/49 (дані не представлені).

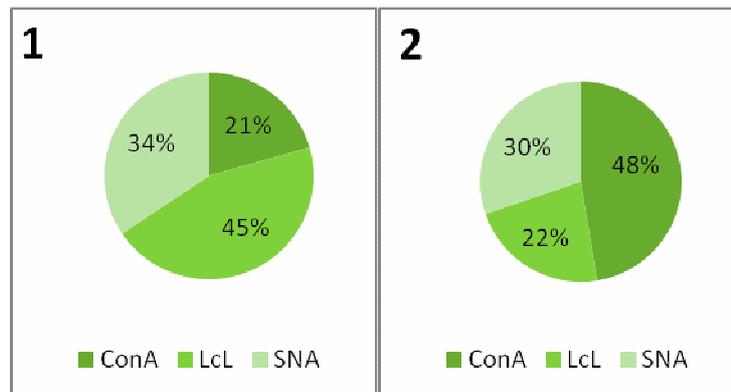


Рис. 2. Співвідношення глікоформ АГП, що є реактивними до лектину канавалії мечовидної – Con A, лектину сочевиці - LcL, лектину бузини чорної - SNA за умов мієлолейкозу (1) та лімфолейкозу (2).

Співвідношення реактивності ConA/LcL/SNA для α -1 кислого глікопротеїну в нормі та за умов лімфолейкозу складало 44/24/32 та 48/22/30, відповідно. А в групі хворих на мієлолейкози співвідношення глікоформ значно відрізнялось та складало: 21/45/34.

Відомо, що N-глікани білків залучені в процеси імунної відповіді та міжклітинної взаємодії, а їх модифікація є універсальною рисою розвитку будь-якого проліферативного процесу [4]. Вибрані нами для досліджень глікопротеїни приймають безпосередню участь розвитку онкопроліферативних захворювань. Так, за даними Ritzenthaler J.D. фібронектин є важливим учасником процесів

вагітних превалюють глікоформи фібронекина, що мають α 2,3-сіальовані поліантенні N-глікани [13]. Роль розгалуженості гліканових гілок фібронекина добре описана в роботах Ying Zhang, який використовуючи клітинну лінію гепатокарциноми H7721 показав, що фібронекинові глікоформи із біантенними послідовностями приймають участь в процесах міжклітинної адгезії, в той час, як глікоформи із три- та тетраантенними гілками комплексного типу відповідають за процеси клітинної міграції та адгезії до епітеліальних клітин [14].

В крові хворих на мієлолейкоз також визначалося підвищення рівня глікоформ АГП із коровим триманозидом, що α (1 \rightarrow 6) фукозильований (див.табл.1) в порівнянні із хворими на лімфолейкоз. Відомо, що існує декілька типів фукозилювання гліканів АГП. Так, фукоза може приєднуватись α 1-3 зв'язком до зовнішнього N-ацетилглюкозаміна та α 1-6 або α 1-2 зв'язком до корового N-ацетилглюкозаміна та галактози, відповідно [15]. В літературних джерелах добре описаними є зміни α 1-3- та α 1-2- фукозильованості АГП та їх вплив на течію ревматоїдного артрити, діабету I типу та інших запальних процесів [16,17]. Стосовно α (1 \rightarrow 6) фукозильованості АГП відомо, що її поява в післяопераційний період у хворих на рак молочної залози є поганим прогнозом [18]. За даними Wang Ха такий тип фукозилювання глікопротеїнів є необхідним для інтегрин-опосередкованої клітинної міграції та сигнальної трансдукції [19].

Дослідження з використанням лектину SNA показали підвищення вмісту глікоформ АГП та фібронекину із α (2 \rightarrow 6)-сіальованими біантенними N-гліканами за умов мієлолейкозу. В літературних джерелах визначається важливість наявності СК, що приймають участь у міжклітинних взаємодіях, включені у маскування поверхневих антигенів, можуть виступати, як рецептори до лектинів, вірусних частинок та гормонів [20]. Підвищення вмісту сіалоформ АГП показано за умов ревматоїдного артрити та вагітності, однак роль цих змін є досі не вивченою [21]. А підвищення кількості сіалоформ фібронекина відомо для різних типів пухлин та ембріонального розвитку [22]. Також нещодавно японськими вченими Takizama et al. показано, що підвищення експресії сіалофібронекину у хворих на рак щитоподібної залози корелює із ступенем метастазування лімфатичних вузлів [23].

Порівняльний аналіз співвідношення глікоформ досліджуваних білків, що відповідає мінорному типу мікрогетерогенності, в групах I та II, виявив найбільшу різницю для АГП (див. рис.2) Мікрогетерогенність даного білку показана при багатьох онкозахворюваннях та запропонована в якості клінічно корисного маркеру для діагностики та прогнозу у хворих із злоякісними новоутвореннями. За нашими даними співвідношення глікоформ мінорного типу АГП можна використовувати для диференціації лімфолейкозів та мієлолейкозів.

ВИСНОВКИ

1. N-гліканові послідовності α -1 кислого глікопротеїну та фібронекину відрізняються за ступенем α -1-6 фукозильованості, α 2-6-сіальованості та розгалуженості за умов лімфо- та мієлолейкозів в порівнянні з нормою.
2. В плазмі хворих на мієлолейкоз переважають глікоформи ФН, що мають біантенні послідовності та підвищується рівень глікоформ АГП із коровим

триманозидом, що $\alpha(1\rightarrow6)$ фукозилований в порівнянні із плазмою хворих на лімфолейкоз.

3. Співвідношення глікоформ мінорного типу АГП можна використовувати для диференцировки лімфолейкозів та мієлолейкозів.

Список літератури

1. Higai K, Aoki Y, Azuma Y, Matsumoto K. Glycosylation of site-specific glycans of alpha1-acid glycoprotein and alterations in acute and chronic inflammation. *Biochim Biophys Acta*. Aug 30;1725(1):128-35. (2005).
2. Pearson TC. Hemorheology in the erythrocytoses. *May*; 68(3):182-91. (2001).
3. Shinji Hashimoto M.D, Takayuki Asao at al. α 1-Acid glycoprotein fucosylation as a marker of carcinoma progression and prognosis. *Cancer*.V.101. (12).P.2825-2836. (2004).
4. Hampel DJ, Köttgen B, Dudenhausen JW, Köttgen E. Fetal fibronectin as a marker for an imminent (preterm) delivery. A new technique using the glycoprotein lectin immunosorbent assay. *J Immunol Meth*; 224: 31-42. (1999).
5. Przybysz M, Maszczak D, Borysewicz K, Szechiński J, Katnik-Prastowska I. Relative sialylation and fucosylation of synovial and plasma fibronectins in relation to the progression and activity of rheumatoid arthritis. *Glycoconj J*. Dec;24(9):543-50. (2007).
6. Lemańska-Perek A, Leszek J, Krzyzanowska-Gołab D, Radzik J, Katnik-Prastowska I. Molecular status of plasma fibronectin as an additional biomarker for assessment of Alzheimer's dementia risk. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009;28(4):338-42. (2009).
7. О.М. Біловол, І.І. Князькова Сучасна тактика лікування хронічних лейкозів. Харківський національний медичний університет. Журнал «Внутренняя медицина»: 3(9); (2008).
8. Tamano K, Sugiura M, Natsuki J, Sawakami-Kobayashi K, Tajima H, Machida M. Improvement of the lectin-antibody enzyme immunoassay of the alpha fetoprotein carbohydrate chain for automation with the enzyme immunoassay robot. *Biosci. Biotechnol. Biochem*; 69(8): 1616-1619. (2005).
9. Ritzenthaler JD, Han S, Roman J. Stimulation of lung carcinoma cell growth by fibronectin-integrin signalling. *Mol Biosyst*. Dec; 4(12):1160-9. (2008).
10. Deshui Jia, Mingxia Yan, Xiaomin Wang, Xiangfang Hao, Linhui Liang, Lei Liu, Hanwei Kong, Xianghuo He, Jinjun Li and Ming Yao. Development of a highly metastatic model that reveals a crucial role of fibronectin in lung cancer cell migration and invasion. *Cancer*; 10:364. (2010).
11. Carlo Gambacorti-Passerini, Rossella Barni, Philipp le Coutre, Massimo Zucchetti, Role of α 1 Acid Glycoprotein in the In Vivo Resistance of Human BCR-ABL+ Leukemic Cells to the Abl Inhibitor STI571. *Oxford Journals V. 92(20)*. P 1641-1650. (2000).
12. Andrzej Mackiewicz, Krystyna Mackiewicz (Glycoforms of serum α 1-acid glycoprotein as markers of inflammation and cancer. *Glycoconjugate Journal*. V. 12(3), P. 241-247. (1995).
13. Hirnle L, Katnik-Prastowska I. Amniotic fibronectin fragmentation). *Clin Chem Lab Med*.; 45(2):208-14. (2007).
14. Zhang Y, Zhao JH, Zhang XY, Guo HB, Liu F, Chen HL. Relations of the type and branch of surface N-glycans to cell adhesion, migration and integrin expressions. *Mol Cell Biochem*.; May; 260(1-2):137-46. (2004).
15. Fournier, T. Medjoubi-N, N. Porquet, D. , Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1482: 157171.(2000).
16. Havenaar, E. C. Hoff, R. C. van den, D. H. Eijnden, W. van Dijk, Severe rheumatoid arthritis prohibits the pregnancy-induced decrease in α 3-fucosylation of α 1- acid glycoprotein. *Glycoconjugate J*. 15 389395 17. (1998).
17. D. C. Schalkwijk, C. G. Stehouwer, C. D. Koeleman, C. A. van het, B. Hof, W. van Dijk, 2001 Increased alpha3-fucosylation of alpha1-acid glycoprotein in Type I diabetic patients is related to vascular function. *Glycoconjugate Journal*. 2001 18 261268 . (2001).
18. Kevin D. Smith, Jennifer Behan, Gerardine Matthews-Smith1 and Anthony M. Magliocco2 Alpha-1-Acid Glycoprotein (AGP) as a Potential Biomarker for Breast Cancer. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. "Glycosylation" September 26, 2012.

19. Wang X, Gu J, Ihara H, Miyoshi E, Honke K, Taniguchi N. Core fucosylation regulates epidermal growth factor receptor-mediated intracellular signaling. *J Biol Chem.*: Feb 3;281(5):2572-7. (2005).
20. Uslu C, Taysi S, Akcay F, Sutbeyaz MY, Bakan N. Serum free and bound sialic acid and alpha-1-acid glycoprotein in patients with laryngeal cancer. *Ann Clin Lab Sci.* Spring;33(2):156-9. (2003).
21. Elliott MA, Jørgensen HG, Smith KD. Hypersialylation of α 1-acid glycoprotein in rheumatoid arthritis. *Pharmacy and Pharmacology Communications*: 4- 54554. (1998).
22. Vallejo V, Reyes-Leyva J, Hernandez J, Ramirez H, Delannoy P, Zenteno E. Differential expression of sialic acid on porcine organs during the maturation process. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*; 126: 415-24. (2000).
23. Hiroshi Takeyama, Shigeya The Expression of Sialic Fibronectin Correlates with Lymph Node Metastasis of Thyroid Malignant Neoplasmas. *Anticancer Research*; V. 31 (4). 1395-1398: (2011).

Маслак А.С. Соотношение гликоформ фибронектина и α -1 кислого гликопротеина плазмы больных миело- и лимфолейкозы / А.С. Маслак, О.В. Костюк, А.О. Кулинич, И.В. Машейко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С.115-122.

Исследована гликозилированность минорного типа α -1 кислого гликопротеина и фибронектина плазмы крови больных с миело- и лимфолейкозом. В работе использованы лектины канавалии мечевидной, чечевицы - LcL и бузины черной - SNA. Установлено, что в плазме больных миелолейкозом преобладают гликоформы фибронектина, которые содержат биантенные последовательности и повышается уровень гликоформ α -1 кислого гликопротеина с $\alpha(1\rightarrow6)$ -фукозилированным коровым триманозидом, по сравнению с плазмой больных лимфолейкозом. Показано, что соотношение гликоформ α -1 кислого гликопротеина можно использовать для дифференцировки лимфолейкоза и миелолейкоза.

Ключевые слова: α -1 кислый гликопротеин, фибронектин, гликозилированность, лектины, лимфолейкозы, миелолейкозы.

Maslak G.S. Ratio of plasma fibronectin and α -1 acid glycoprotein glycoform in patients with myeloid leukemia and lymphocytic leukemia / G.S. Maslak, O.V. Kostyuk, A.O. Kulinich, I.V. Masheyko // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 115-122.

Minor type glycosylation of α -1 acid glycoprotein and plasma fibronectin in patients with myeloma and leukemia were investigated. Canavalia ensiformis lectin – Con A, Lens culinaris agglutinin - LcL and Sambucus nigra lectin – SNA were used. Increased level of fibronectin glycoforms with biantennary N-glycans and enhanced levels α -1 acid glycoprotein glycoforms with a core $\alpha(1\rightarrow6)$ fucose were found in plasma of patients with myeloid leukemia compared to the plasma of patients with lymphocytic leukemia. It is shown that the ratio glycoform α -1 acid glycoprotein can be used to differentiate lymphocytic leukemia and myeloid leukemia.

Keywords: α -1 acid glycoprotein, fibronectin, glycosylation, lectins, lymphocytic leukemia, myeloid leukemia.

Поступила в редакцию 05.05.2013 г.

УДК 577.353:57.04:537.868

ВПЛИВ СЛАБКИХ НИЗЬКОЧАСТОТНИХ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ ПОЛІВ НА ВНУТРІШНЬОКЛІТИННУ КОНЦЕНТРАЦІЮ КАЛЬЦІЮ ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИН

Мельник М.І., Артеменко О.Ю., Мартинюк В.С.

*ННЦ «Інститут біології» Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
Київ, Україна
E-mail: gribovamari@gmail.com*

Досліджували вплив слабких (25 мкТл) наднизькочастотних (1-100 Гц) електромагнітних полів на зміну внутрішньоклітинної концентрації кальцію в суспензії гладеньком'язових клітин шлунку щурів. Показали, що певні частотні діапазони проявляють активуючу дію на гладеньком'язові клітини (15-16, 35, 45, 50-51, 67, 78, 81, 91, 95 і т.д.), а певні – інгібуючу (19-21, 26-28, 60-61, 97 і т.д.). Виявили, що біоефективні електромагнітні поля викликають зміну концентрації внутрішньоклітинного кальцію до 400 нМ/л.

Ключові слова: слабкі наднизькочастотні електромагнітні поля, гладеньком'язові клітини, внутрішньоклітинний кальцій.

ВСТУП

Скорочення гладеньких м'язів лежить в основі функціонування багатьох внутрішніх органів. Як відомо, головним пусковим механізмом в цьому процесі є збільшення концентрації іонів кальцію в гладеньком'язових клітинах. Концентрація внутрішньоклітинного кальцію збільшується за рахунок надходження його ззовні через канали плазматичної мембрани та виходу його з внутрішньоклітинних кальцієвих депо. Зменшення рівня кальцію всередині гладеньком'язових клітин відбувається зворотнім шляхом. Регуляція зміни внутрішньоклітинної концентрації кальцію в гладеньком'язових клітинах відбувається різними шляхами, багато з яких на сьогоднішній день є дослідженими [1, 2]. З'ясування механізмів регуляції концентрації кальцію, а також дослідження зовнішніх факторів, що можуть впливати на неї представляють велику цікавість для вчених.

Одним з потенційних факторів, що може певним чином впливати на живі клітини є електромагнітне поле. Існують дані щодо впливу слабких (до 50 мкТл) низькочастотних (до 100 Гц) електромагнітних полів на живі організми, а зокрема на кальцій-залежні процеси в клітинах [3]. На цей час існує ряд теорій, що пояснюють механізм дії електромагнітних полів на клітини [3, 4], але єдиних загальноприйнятих уявлень поки що немає. Найбільш поширеною теорією магнітобіології є теорія параметричного резонансу [5]. Згідно з цією теорією, слабе магнітне поле, що налаштоване на параметричний резонанс для іонів кальцію та

ряду інших іонів, викликає біологічні ефекти, впливаючи на взаємодію іонів з білками та іншими молекулами в клітині. У зв'язку з цим може спостерігатись цілий спектр біологічних ефектів [6]. Виходячи з того, що іони кальцію відіграють ключову роль в функціонуванні гладеньких м'язів, клітини цієї тканини можуть бути потенційно чутливими до електромагнітних впливів. Дослідження впливу електромагнітних полів на гладеньком'язові клітини є цікавим та актуальним, оскільки на сьогоднішній день існує досить мало даних з цього приводу. Враховуючи вищесказане, ми поставили за мету експерименту знайти біоефективні частоти слабких електромагнітних полів наднизьких частот (ЕМП ННЧ) в діапазоні від 1 до 100 Гц для гладеньком'язових клітин шлунок щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В експериментах використовувались нелінійні білі щури з віваріуму ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварини утримувались в нормальних однакових умовах. Для експерименту брали тварин вагою близько 250 г. Щурів декапітували та вилучали шлунок для подальших досліджень. Вся робота проводилась відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях.

Шлунок розтинали по великій кривизні, промивали в розчині нормального Кребсу та відчищали від сполучних тканин. Відчищену гладеньком'язову тканину в розчині безкальцієвого Кребсу нарізали на дрібні шматочки розміром близько 3x3 мм. Потім поміщали їх в бюкс з 2 мл розчину ферментів та варили при температурі 37 °С впродовж 22 хв. Після варки зливали розчин ферментів та заливали 2 мл безкальцієвого Кребсу. За допомогою самплера з надплавленим носиком проводили механічне подрібнення зварених шматочків тканини, вилучаючи з них клітинну суспензію. Надосадний розчин (суспензію) збирали в центрифужну пробірку. Знову в бюкс з тканиною заливали 2 мл безкальцієвого Кребсу та проводили цю процедуру до тих пір, поки не відбувалось висолювання висхідного розчину. Отриману суспензію центрифугували 2 хв при 1000 g. Після центрифугування зливали надосадний розчин, а в осад клітин додавали безкальцієвий Кребс доводячи об'єм до 1 мл.

Далі суспензію завантажували флуоресцентним кальцієвим зондом індо-1 [7] (на 1 мл суспензії 5 мкл індо-1 та 5 мкл флуороніка) та залишали її в темряві на 40 хв. Після завантажування суспензію із зондом центрифугували знову 2 хв при 1000 g. Зливали надосадний розчин та в осад додавали нормальний Кребс.

В експерименті використовували нормальний розчин Кребса (мМ): 135 NaCl, 5,9 KCl, 1,2 MgCl₂, 11,5 глюкози, 2,5 CaCl₂, 11,6 HEPES; безкальцієвий розчин Кребса (аналогічний нормальному, але без CaCl₂); розчин ферментів (мг на 1 мл безкальцієвого Кребсу): 1 колагенази 1А, 1 соєвого інгібітору трипсину, 1 САБ, 0,5 протеази.

Для реєстрації змін концентрації кальцію суспензію гладеньком'язових клітин піддавали впливу імпульсного (меандр) електромагнітного поля наднизької частоти від 1 до 100 Гц впродовж 32 хвилин. Протягом експозиції кожні 4 хвилини вимірювали концентрацію кальцію спектрофлуориметричним методом [7] за

допомогою спектрофлуориметра СДЛ-2 (ЛОМО). У зв'язку з тим, що фонові концентрації іонів кальцію варіювали в різних експериментальних зразках в межах до 50 нМ/л, її значення в кожній часовій точці з 4-хвилинним інтервалом нормалізували відносно початкового значення, що відповідає нульовому часовому підрахунку і, відповідно, нульовому значенню зміни концентрації (рис. 1).

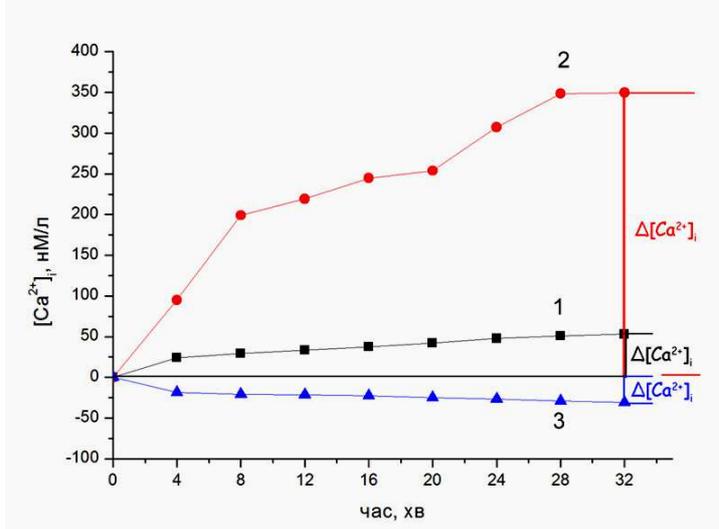


Рис. 1. Методика вираховування відносної зміни концентрації кальцію відносно початку експерименту. $\Delta[Ca^{2+}]_i$ – зміна концентрації внутрішньоклітинного кальцію. Примітки: «0» - початкова внутрішньоклітинна концентрація кальцію; лінії 1, 2 і 3 – зміна концентрації кальцію в часі в контрольних зразках (1) і при дії електромагнітного поля наднизьких частот (2,3).

Отримані дані представили у вигляді графіків залежності змін концентрації внутрішньоклітинного кальцію на 4-й, 8-й, 12-й, 16-й, 20-й, 24-й, 28-й та 32-й хвилині вимірювання від частоти електромагнітного поля (рис. 2). Важливим моментом такого методичного підходу було те, що в контрольних зразках практично завжди відбувалось повільне спонтанне зростання внутрішньоклітинної концентрації кальцію, тоді як вплив електромагнітного поля призводив до прискорення або пригнічення цього процесу, що фіксувалось графічно (рис. 1, 2).

Імпульсне електромагнітне поле окремих частот створювали за допомогою кілець Гельмгольца. Генератором сигналів був серійний генератор Гб-28, який дозволяє створювати магнітні поля встановлених частот і амплітуд. Імпульси МП були прямокутної форми зі змінною полярністю за один період коливань. Індукцію МП ННЧ контролювали мікротесламетром Г-79 і магнітометром, в якому сенсором магнітного поля був датчик Хола. Величина індукції МП була 25 мкТл. Магнітні поля такої інтенсивності відносять до категорії дуже слабких, вони характеризуються низькими значеннями енергії і їх дія не призводить до теплових ефектів при взаємодії з речовиною. Слід відмітити, що електромагнітний фон в лабораторії під час проведення експериментів не перевищував рівня 80 нТл, що в

середньому на декілька порядків менше інтенсивності ЕМП, яка створювалась в експерименті.

Статистичний аналіз проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Оцінку достовірності різниці між статистичними вибірками проводили на основі t-критерію Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що слабкі (25 мкТл) змінні низькочастотні електромагнітні поля в діапазоні від 1 до 100 Гц впливають в певній мірі на концентрацію внутрішньоклітинного кальцію в гладеньком'язових клітинах шлунку щурів (рис. 2). Такі невеликі зміни (до 400 нМ/л) тим не менш можуть бути важливими для функціонування гладеньких м'язів, модулюючи пороги збудження та силу тонічних скорочень.

На рис. 2 помітно, що достовірні зміни концентрації внутрішньоклітинного кальцію, порівняно з контрольними зразками, мають місце при дії електромагнітного поля певних частот (рис. 2). При цьому спостерігається як підвищення рівню кальцію (найбільш ефективні частоти: 15-16, 35, 45, 50-51, 65, 67, 69, 78, 81, 84, 86-87, 91-92, 95 Гц), так і зменшення (найбільш ефективні частоти: 1-3, 19-21, 26-28, 60-61, 68, 96-97, 100 Гц). До того ж, видно, що біологічна відповідь гладеньком'язових клітин на електромагнітне поле розвивається впродовж 12-16 хвилин, а далі значних змін внутрішньоклітинної концентрації кальцію не спостерігається.

У попередньому розділі «Матеріали і методи» було акцентовано увагу на той факт, що по мірі інкубації клітин, рівень внутрішньоклітинного кальцію зростає. В контрольних зразках він зростав приблизно в середньому на 50 нМ/л, але при впливі електромагнітних полів міг збільшуватись на 300-400 нМ/л. Це можна пояснити тим, що інкубація виділених гладеньком'язових клітин у штучному середовищі є певним слабким подразником, тому із різних причин з часом збільшується концентрація кальцію. Вплив електромагнітного поля в залежності від частоти посилює або пригнічує цей процес. Таким чином можна умовно говорити про активуючу і інгібуючу дію ЕМП ННЧ (табл.1). Цей факт відкриває можливість використання ЕМП ННЧ для терапевтичних впливів, які ставлять за мету активацію або пригнічення функцій тканин і органів, в діяльності яких важливу роль відіграють гладенькі м'язи (серцево-судинна система, шлунково-кишковий тракт та ін.).

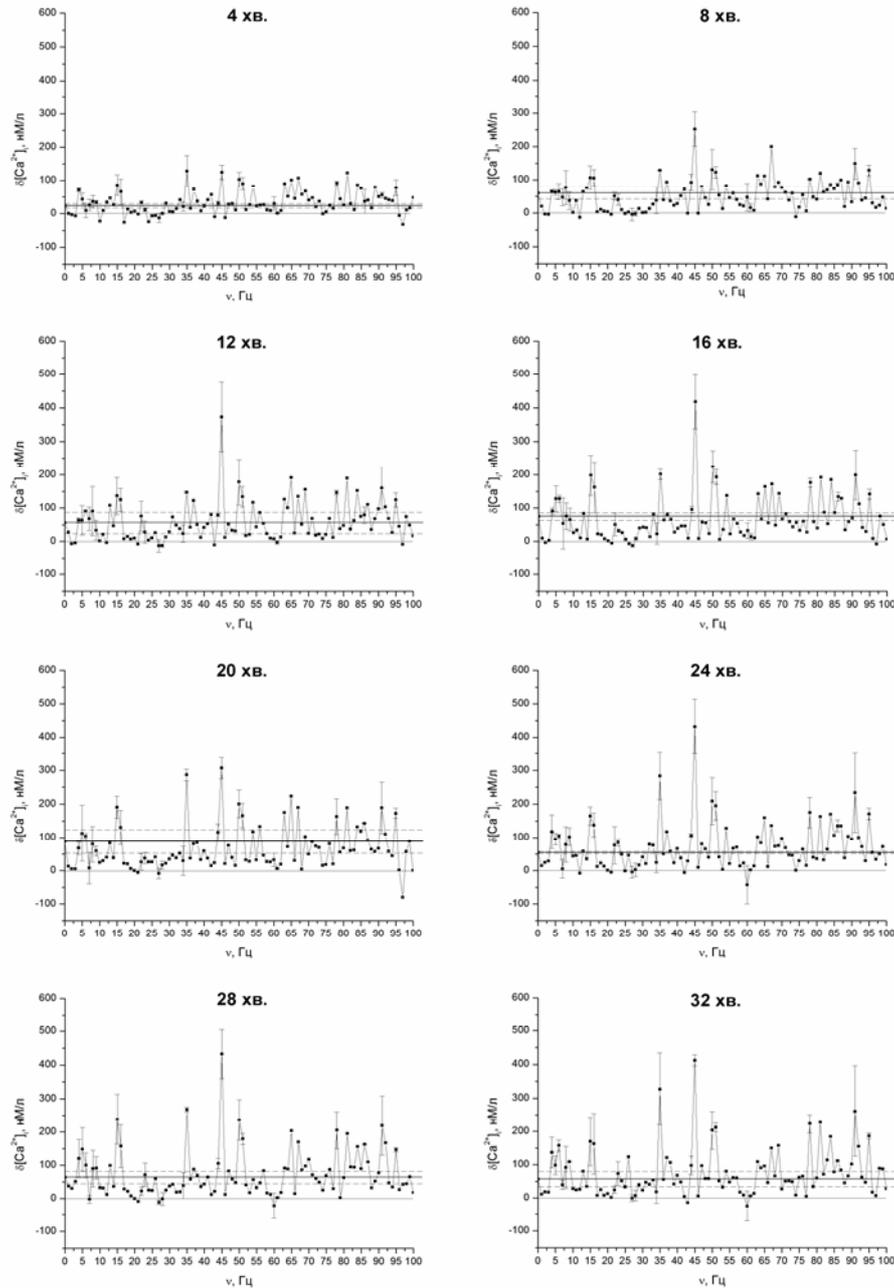


Рис. 2. Вплив електромагнітного поля наднизьких частот на внутрішньоклітинну концентрацію кальцію в гладеньком'язових клітинах шлунку щурів в залежності від часу експозиції (на 4-й, 8-й, 12-й, 16-й, 20-й, 24-й, 28-й та 32-й хв.).

Примітки: за «0» прийнято початкове значення внутрішньоклітинної концентрації кальцію; суцільна лінія відповідає середньому значенню змін концентрації кальцію в контрольних зразках, а пунктирні лінії є, відповідно, похибкою цієї середньої величини.

Таблиця 1.

Біологічна ефективність наднизьких частот ЕМП на моделі внутрішньоклітинної концентрації гладеньком'язових клітин

Активуєчі частоти		Пригнічуючі частоти	
Частота (частотний діапазон), Гц	Величина максимального ефекту відносно контролю, нМ/л	Частота (частотний діапазон), Гц	Величина максимального ефекту відносно контролю, нМ/л
4-6	53-85	1-3	74-82
8-9	35-52	7	79
13	52	10-12	58-72
15-16	106-175	14	67
35	270	17-18	66-67
37-38	50-67	19-21	81-94
44	52	22-25	50-68
45	378	26-28	71-96
47	40	29-34	43-65
50-51	155-173	36	50
54	73	39-41	36-54
56	45	46	67
63-64	45-86	48-49	49-71
65	140	52-53	59-69
67	141	55	55
69	100	57-59	41-61
70-71	24-54	60-61	82-96
76	24	62	68
78	166	66	57
81	170	68	83
82-83	31-57	72-73	33-37
84	127	74-75	69-72
85	53	77	67
86-87	80-100	79-80	35-60
89-90	45-56	88	40
91	204	93-94	33-45
92	103	96	85
95	130	97	168
99	30	98	36
		100	87

Слід відмітити, що у попередніх дослідженнях було встановлено подібну полімодальну відповідь тучних клітин на дію ЕМП різних частот в діапазоні 2-100 Гц [8], однак дослідники акцентували увагу головним чином тільки на активуючу дію даного фізичного фактора. Тим не менш достовірно зареєстровано інгібуючу

дію ЕМП частотою 32-34 Гц на дегрануляцію тучних клітин. Дегрануляція тучних клітин є кальцій залежним процесом. Через це, цікавим стало співставити дані біологічної активності імпульсних електромагнітних полів наднизьких частот на моделях внутрішньоклітинної концентрації кальцію в гладеньком'язових клітинах і дегрануляції тучних клітин [8]. Порівняльний графік біоефективності наведено на рис. 3.

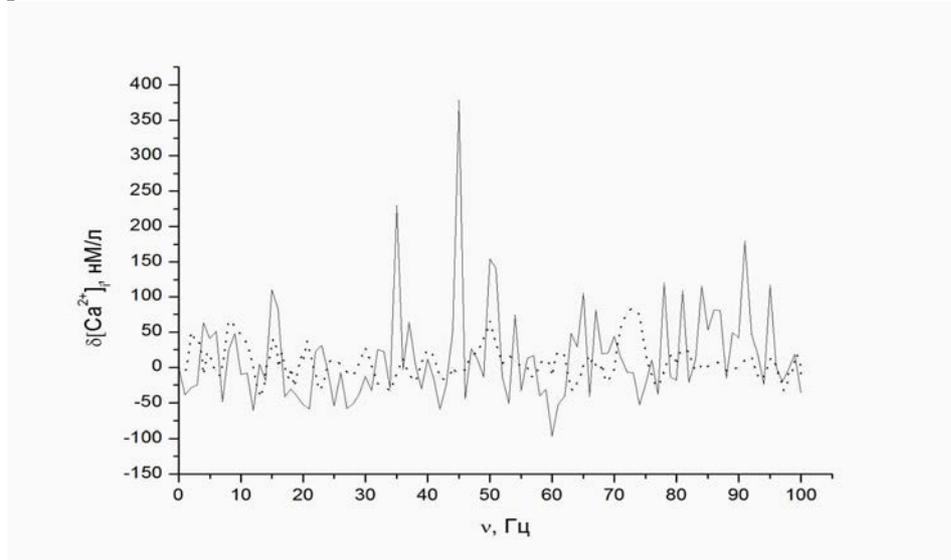


Рис. 3. Співставлення біоефективності електромагнітного поля наднизьких частот на моделях внутрішньоклітинної концентрації кальцію в гладеньком'язових клітинах (суцільна лінія) і дегрануляції тучних клітин (пунктирна лінія).

Видно, що в діапазоні до 50 Гц біологічні ефекти на обох типах клітин достатньо схожі. Положення максимумів і мінімумів на графіку для гладеньком'язових клітин зсунуті в середньому на 1-2 Гц в більш високочастотну область, порівняно з даними на тучних клітинах. Це може бути пояснено тим, що дослідження проводились в різних географічних широтах. Експеримент на гладеньком'язових клітинах проводили в Києві (географічна широта $50^{\circ} 27'$, величина індукції геомагнітного поля 47,5 мкТл), а на тучних клітинах – в Сімферополі (географічна широта $44^{\circ} 57'$, величина індукції геомагнітного поля 43 мкТл). Згідно сучасних теоретичних уявлень, що пояснюють первинні механізми впливу ЕМП ННЧ на біологічні об'єкти, індукція постійного геомагнітного поля є важливою для умов резонансної взаємодії ЕМП з різними іонами [3]. Різниця індукції геомагнітного поля для широт Києва і Сімферополя складає 3-4 мкТл, при чому відповідним чином змінюється положення резонансних смуг (табл. 2.), які розраховані за формулою іонного параметричного резонансу $f = qV/2\pi m$, де q - заряд іона, V - індукція постійного магнітного поля, m - маса іона. Згідно розрахунків окремі ефекти можна формально зв'язати з окремими біологічно значущими іонами.

З рис. 3 добре видно, що в діапазоні 50-100 Гц відповідь гладеньких м'язів і тучних клітин суттєво відрізняється, особливо в діапазоні 80-100 Гц. Такі відмінності поки важко пояснити. Скоріше за все це основною причиною цієї різниці є відмінності у структурно-функціональній організації клітин та їх іонному складі.

Таблиця 2.

Теоретичний розрахунок резонансних частот біологічно важливих іонів в геомагнітному полі на широті Києва та Сімферополя

Іон	Частота резонансу, Гц	
	Київ (47,5 мкТл)	Сімферополь (43 мкТл)
Г	6	5
H ₂ PO ₄ ⁻	8	7
Cu ⁺	11	10
CH ₃ COO ⁻	12	11
HCO ₃ ⁻	12	11
HPO ₄ ²⁻	15	14
SO ₄ ²⁻	15	14
K ⁺	18	17
Se ²⁻	18	17
Cl ⁻	20	19
Zn ²⁺	22	20
Cu ²⁺	22	21
PO ₄ ³⁻	23	21
CO ₃ ²⁻	25	22
Ni ²⁺	26	23
Fe ²⁺	26	24
Mn ²⁺	27	24
Cr ²⁺	28	25
Na ⁺	32	29
Ca ²⁺	37	33
Se ⁴⁺	37	33
Fe ³⁺	39	35
Cr ³⁺	42	38
OH ⁻	43	39
Mo ⁶⁺	47	43
Mn ⁴⁺	53	48
Se ⁶⁺	55	50
Mg ²⁺	60	54
Cr ⁶⁺	84	76
H ₃ O ⁺	398	360
H ⁺	729	660

Примітка: значення резонансів іонів розраховано за формулою $f = qV/2\pi m$, де q - заряд іона, V - індукція постійного магнітного поля, m - маса іона.

Співставлення біологічно активних частот ЕМП в таблицях 1 і 2 показує певну формальну відповідність резонансним взаємодіям різних іонів з комбінованим ЕМП, що гіпотетично вказує на потенційну можливість залучення широкого спектру різних іонів в механізми дії ЕМП, а не тільки іонів кальцію. Однак такий формальний підхід не є достатньо коректним для ґрунтового обговорення первинних механізмів впливу ЕМП ННЧ на біологічні процеси. Добре відомо, що активація кальцій-залежних шляхів внутрішньоклітинної сигналізації відбувається у відповідь на дію різноманітних факторів хімічної і фізичної природи, тому цей процес, як правило, не відображає специфіки первинних механізмів впливу. Це означає, що ми реєструємо загальну клітинну відповідь на дію ЕМП. З іншого боку складна частотна залежність біологічних ефектів і достатньо вузькі біоефективні «частотні вікна», які спостерігаються різними дослідниками [8, 9], примушує шукати пояснення первинних механізмів впливу на основі уявлень квантової фізики, де резонансні взаємодії або неможливість їх реалізації є головними умовами для прояву біологічних ефектів.

ВИСНОВКИ

Слабкі (25 мкТл) низькочастотні (1-100 Гц) електромагнітні поля змінюють базову внутрішньоклітинну концентрацію кальцію в гладеньком'язових клітинах шлунку шурів. Зміни концентрації кальцію досягають максимальних значень вже на 12-16 хвилині експозиції в ЕМП ННЧ, після чого істотних змін не відбувається.

Знак біологічного ефекту залежить від частоти ЕМП. В певних частотних діапазонах (15-16, 35, 45, 50-51, 65, 67, 69, 78, 81, 84, 86-87, 91-92, 95 Гц) спостерігається збільшення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, в інших (1-3, 19-21, 26-28, 60-61, 68, 96-97, 100 Гц) – навпаки зниження.

Список літератури

1. Calcium: a Matter of Life or Death. edited by J. Krebs and M. Michalak // Elsevier Science, 2007-08-17, Vol. 41, 584.
2. Hideaki Karaki, Hiroshi Ozaki, Masatoshi Hori and other. Calcium Movements, Distribution, and Functions in Smooth Muscle // Pharmacological Reviews. Vol. 49, No.2. 1997
3. Бинги В.Н., Савин А.В. Физические проблемы действия слабых магнитных полей на биологические системы // УФН. – 2003. - Т. 173, № 3. - С. 265–300.
4. Liboff A. R. The electromagnetic field as a biological variable // On the nature of electromagnetic field interactions with biological systems. Eds. Frey A. N., Langes R. J. Co. — Austin, 1994. — P. 59—72.
5. Леднев В.В. Биоэффекты слабых комбинированных, постоянных и переменных магнитных полей // Биофизика. – 1996. – Т. 41, № 1. – С. 224-232.
6. Мартынюк В.С., Цейслер Ю.В., Темурьянц Н.А. Интерференция механизмов влияния слабых электромагнитных полей крайне низких частот на организм человека и животных // Геофизические процессы и биосфера. - 2012. - Т. 11, № 2. - С. 16-39.
7. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. – М., 1986.
8. Мартынюк В.С., Абу Хада Р.Х. Реакция тучных клеток на действие переменных магнитных полей в условиях *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2001. – Т. 14 (53), № 2. – С. 3-7.
9. Богатина Н.И., Шейкина Н.В., Кордюм Е.Л. Изменения гравитропической реакции, вызванные постоянным магнитным полем. // Біофізичний вісник. 2006. - вип. 17(1). – С. 78-82.

Мельник М.И. Влияние слабых низкочастотных электромагнитных полей на внутриклеточную концентрацию кальция гладкомышечных клеток / М.И. Мельник, А.Ю. Артеменко, В.С. Мартинюк // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С.123-132.

Исследовали влияние слабых (25 мкТл) сверхнизкочастотных (1-100 Гц) электромагнитных полей на изменение внутриклеточной концентрации кальция в суспензии гладкомышечных клеток желудка крыс. Показали, что определенные частотные диапазоны обладают активирующим воздействием на гладкомышечные клетки (15-16, 35, 45, 50-51, 67, 78, 81, 91, 95 и т.д.), а другие – ингибирующим (19-21, 26-28, 60-61, 97 и т.д.). Определили, что биоэффективные электромагнитные поля вызывают изменение концентрации внутриклеточного кальция до 400 нМ/л.

Ключевые слова: слабые сверхнизкочастотные электромагнитные поля, гладкомышечные клетки, внутриклеточный кальций.

Melnyk M.I. The influence of weak low-frequency electromagnetic fields on intracellular calcium concentration of the smooth muscle cells / M.I. Melnyk, O.Yu. Artemenko, V.S. Martynyuk // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 123-132.

It was investigated the influence of weak (25 μ T) low-frequency (1-100 Hz) electromagnetic fields on intracellular calcium concentration in the suspension of smooth muscle cells of the stomach of rats. We have shown that some frequency ranges activate smooth muscle cells (15-16, 35, 45, 50-51, 67, 78, 81, 91, 95 etc.), and other some frequencies inhibit it (19-21, 26-28, 60-61, 97 etc.). We have determined that bioeffective electromagnetic fields cause change of intracellular calcium concentration up to 400 nmol/L.

Keywords: weak low-frequency electromagnetic fields, smooth muscle cells, intracellular calcium.

Поступила в редакцию 15.05.2013 г.

УДК 591.148:574.52(262.5)

ВЫЯВЛЕНИЕ МЕТОДОМ РАЗЛОЖЕНИЯ В РЯД ФУРЬЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ РИТМОВ ГИДРОБИОНТНЫХ СООБЩЕСТВ

Мельникова Е.Б., Лямина Н.В.

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь,
Украина
E-mail: helena_melnikova@mail.ru*

По результатам экспериментальных исследований установлено, что поле биолюминесценции, формируемое гидробионтными сообществами в темное время суток в прибрежных водах Черного моря, подвержено периодическим изменениям. Методом разложения в ряд Фурье выделены основные гармонические составляющие изменения поля биолюминесценции и рассчитаны их характеристики. Показано, что гармонические составляющие обусловлены биологическими ритмами гидробионтного сообщества.

Ключевые слова: поле биолюминесценции, анализ Фурье, гармонические составляющие, биологические ритмы, Черное море.

ВВЕДЕНИЕ

Биолюминесцентное поле Черного моря отражает пространственно-временную структуру гидробионтных сообществ и подвержено периодическим изменениям, связанным с особенностями их развития [1, 2, 3]. При этом на распределение гидробионтов в толще воды и их развитие влияют биотические факторы (эндогенные ритмы, возраст, пол, размножение, миграции и т.д.) и абиотические факторы (фотопериодизм, степень освещенности, температура, соленость, течение, наличие пищи и т.д.). Эндогенные суточные ритмы проявляются во многих физиологических процессах гидробионтов и обеспечивают возможность точно распределять во времени как светозависимые и темновые процессы, так и интенсивность питания, рост, репродукцию и др. [4, 5].

Целью настоящей работы является выделение методом разложения в ряд Фурье основных биологических ритмов гидробионтных сообществ и оценка их влияния на изменения интенсивности поля биолюминесценции в темное время суток в прибрежных водах Черного моря.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения изменчивости интенсивности поля биолюминесценции использовали экспериментальные данные, полученные осенью 2010 года в темное время суток (с 17 ч. до 6 утра следующего дня), в прибрежных водах г. Севастополя на траверсе б. Круглая. Глубина моря в районе исследования около 70 м.

Пространственную структуру интенсивности поля биолюминесценции исследовали методом многократного батифотометрического зондирования толщи воды, используя гидробиофизический комплекс «Сальпа-М» [6]. Было проведено по 10 зондирований каждый час с интервалом 2 мин, что позволило получить временной ряд усредненных данных интенсивности поля биолюминесценции по каждому часу темного времени суток. Анализ амплитудно-временных характеристик изменения биолюминесценции проводили в верхнем слое воды, в котором хорошо выражена периодичность нарастания и убывания интенсивности поля биолюминесценции [7, 8].

В качестве метода определения продолжительности периодов и амплитудно-фазовых характеристик интенсивности поля биолюминесценции использовали быстрое преобразование Фурье. Преобразование Фурье позволяет исходный временной процесс, представить в виде совокупности гармонических функций (спектральных составляющих) с различными периодами и амплитудами, в которых слагаемые расположены по убыванию их периодов. Полученные спектральные составляющие образуют частотный спектр исходного временного ряда [9, 10, 11]:

$$y(t) = a_0 + \sum_{j=1}^m \left(a_j \cos \frac{2\pi}{T_j} t + b_j \sin \frac{2\pi}{T_j} t \right) = a_0 + \sum_{j=1}^m c_j \sin \left(\frac{2\pi t}{T_j} + \varphi_j \right), \quad (1)$$

где $a_0 = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^N y_0(t)$ – постоянная составляющая или нулевая гармоника; $y_0(t)$ – значения исходного временного ряда; $T_j = N/j$ – период j -го гармонического колебания; N – количество данных исходного временного ряда; $m = N/2$ – количество гармоник; a_j, b_j – коэффициенты ряда Фурье; $c_j = (a_j^2 + b_j^2)^{1/2}$

амплитуда j -ой гармоники; $j = 1, 2, \dots, N/2$ – номер гармоники; $\varphi_j = \arctg \frac{a_j}{b_j}$ – начальная фаза j -ой гармоники.

Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований производили с помощью пакетов программного статистического анализа *Microsoft Excel 7.0*, *SPSS*, *Statistica 6.0*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для нахождения биологических ритмов, лежащих в основе процесса изменения интенсивности поля биолюминесценции в течение темного времени суток, использовали временной ряд экспериментально найденной зависимости интенсивности поля биолюминесценции (см. рис 1).

Для нахождения спектральных составляющих характеризующих изменения интенсивности поля биолюминесценции использовали преобразование Фурье. Были найдены периоды гармонических составляющих, коэффициенты a_j и b_j ряда Фурье, амплитуды гармоник и их начальные фазы (см. формулу (1)). Результаты спектрального анализа представлены в табл. 1. Физический смысл нулевой гармоники – среднее значение интенсивности поля биолюминесценции за исследуемый период времени.

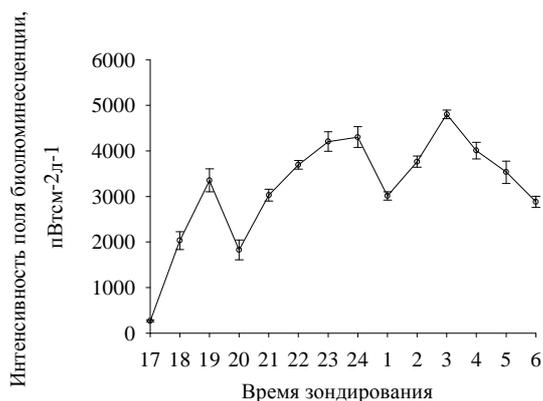


Рис. 1. Изменение интенсивности поля биолюминесценции в темное время суток.

Таблица 1
Результаты спектрального анализа экспериментальных данных

Номер гармоники	Период, ч	Коэф., a_j	Коэф., b_j	Амплитуда гармоники, пВт·см ⁻² ·л ⁻¹	Начальная фаза, рад
0	—	—	—	3194,4	—
1	14,0	-813,7	202,7	838,6	-1,237
2	7,0	-308,8	91,1	322,0	-1,284
3	4,7	-224,0	693,0	728,3	-0,313
4	3,5	-187,9	-94,1	210,1	1,107
5	2,8	-437,1	-89,2	446,1	1,369
6	2,3	108,3	-131,0	170,0	-0,691
7	2,0	129,6	0	129,6	1,563

По полученным данным была построена спектрограмма (рис. 2). Видно, что амплитуды разных спектральных составляющих отличаются до 6 раз. Наибольшие амплитуды имеют первая, третья и пятая гармоники. Амплитуды этих гармоник соответственно равны: 839, 728 и 446 пВт·см⁻²·л⁻¹.

Эти три гармонические составляющие (три биологических ритма) вносят основной вклад в изменения интенсивности поля биолюминесценции в темное время суток. Поэтому остальные гармоники (биологические ритмы) вследствие их малой амплитуды не учитывали в дальнейшем анализе.

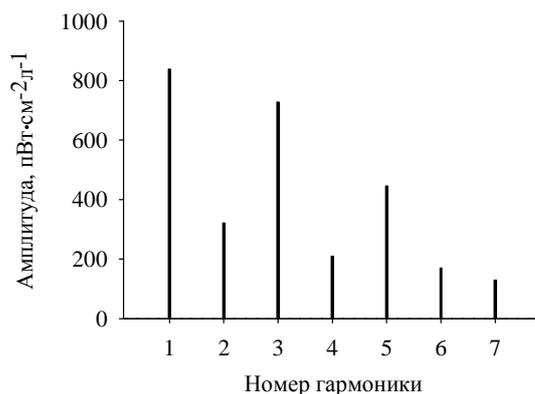


Рис. 2. Спектрограмма изменения интенсивности поля биolumинесценции в темное время суток.

Аналитические выражения первой, третьей и пятой гармоник, полученные на основе выражения (1) и расчетных характеристик этих гармоник (см. табл. 1), имеют вид:

$$\begin{aligned} y_1(t) &= 838,6 \cdot \sin(0,449t - 1,327); \\ y_3(t) &= 728,3 \cdot \sin(1,337t - 0,313); \\ y_5(t) &= 446,1 \cdot \sin(2,244t + 1,369). \end{aligned} \quad (2)$$

На рис. 3 построены графики изменения интенсивности поля биolumинесценции, обусловленные процессами описываемыми уравнениями (2), с учетом постоянной составляющей (постоянная составляющая обозначена на рис. 3 пунктиром).

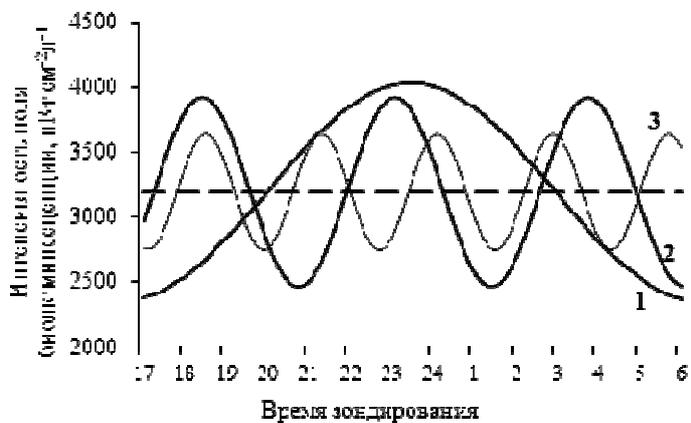


Рис. 3. Основные гармонические составляющие (1 – первая гармоника, 2 – третья гармоника, 3 – пятая гармоника) изменения интенсивности поля биolumинесценции.

Видно, что с наступлением темного времени суток все три гармоники увеличивают свое значение. Отсюда можно сделать вывод, что смена светового и темного периодов являются синхронизирующим фактором, дающим начало биологическим процессам, протекающим более активно в темный период суток. При этом процессы, формирующие первую гармонику спектра, ответственны за медленные изменения интенсивности поля биолюминесценции, а процессы, формирующие третью и пятую гармоники спектра, — за быстрые изменения.

Первая гармоника характеризует процесс нарастания интенсивности поля биолюминесценции в течение темного времени суток и падения в утренние часы. Этот цикл обусловлен сменой и продолжительностью светового и темного периодов. Анализ литературных источников показал, что одним из факторов суточного ритма интенсивности свечения биолюминесцентных организмов является солнечный свет. Вследствие суточного хода солнца интенсивность биолюминесценции изменяется в 30–100 раз [2, 12]. В работе Ю.Н. Токарева с соавторами [13] приводятся вертикальные профили дневной и ночной биолюминесценции черноморского планктона. Показано, что в октябре-ноябре суммарное свечение в шестидесятиметровом слое воды ночью выше, чем днем.

Нами получено, что амплитуда первой гармоники равна $839 \text{ пВт}\cdot\text{см}^{-2}\cdot\text{л}^{-1}$, это характеризует ее вклад в изменение интенсивности поля биолюминесценции в течение темного времени суток.

Характерной чертой высокочастотных колебаний (третья и пятая гармоники) с периодом 4,7 и 2,8 ч являются процессы, связанные с количественным развитием планктона в течение суток. В работах [14, 15] показано, что количественное развитие морского фитопланктона зависит, прежде всего, от скорости деления клеток и от интенсивности выедания их зоопланктоном. В работе С.А. Пионтковского и Т.С. Петипа [16], посвященной изучению суточного ритма в питании у *Acartia clausi*, показано, что зависимость между ночной и дневной интенсивностью питания у рачков разного возраста связана с их различной способностью к миграциям. Чем интенсивнее мигрирует рачки, тем интенсивнее питаются они ночью. Так, например, половозрелые самцы и самки вне периода размножения, а также копеподиты *Acartia clausi* стадии V мигрируют активнее других стадий, придерживаясь в дневное время более глубоких водных слоев. Ночью, поднимаясь к поверхности, они питаются со значительно большей интенсивностью, чем днем по сравнению с остальными группами. Младшие копеподиты и науплиусы, наоборот, обладают меньшими амплитудами миграций, постоянно обитают в самых верхних слоях воды и питаются с наибольшей интенсивностью в дневное время. Существование различных суточных ритмов питания обуславливается, вероятно, различной приспособленностью возрастных групп к освещенности. В работе [16] также отмечено, что самцы на ярком свете выживают хуже, чем при слабом освещении.

Полный процесс прохождения пищи по кишечнику у всех стадий возрастных стадий *Acartia clausi* и у многих других видов копепод в период относительно интенсивного питания фитопланктоном длится в среднем 3 часа, при питании дополнительно животной пищей продолжительность процесса пищеварения

увеличивается в среднем до 5 часов, что влияет на суточный ритм интенсивности питания.

В отношении суточной ритмики деления клеток планктонных водорослей существуют разные мнения. Так, Л.А. Ланская [17], исследуя скорость деления клеток черноморского фитопланктона в культурах, пришла к выводу, что деление большинства видов динофлагеллят происходит круглосуточно, но максимальное количество делящихся клеток приходится на вечерние часы (18—19) и ночное время. Вместе с тем, А.В. Ковалёв [18] и Н.Г. Столбова с соавторами [19] выделяли для максимальной репродукции клеток ночные часы.

Изложенные закономерности деления клеток фитопланктона на протяжении темного времени суток позволяют предположить, что появление в наших исследованиях нарастаний интенсивности поля биолуминесценции в 19 ч, 23 – 24 ч и к 3 ч утра является результатом превалирования скорости деления светящихся клеток динофлагеллят над интенсивностью их выедания зоопланктоном в это время.

Такой характер изменчивости интенсивности поля биолуминесценции свидетельствует о том, что третья и пятая гармоники с периодами 4,7 и 2,8 ч, и амплитудами 728 и 446 пВт·см⁻²·л⁻¹, соответственно, вносящие значительный вклад в периодические изменения интенсивности поля биолуминесценции в темное время суток, обусловлены эндогенными суточными ритмами планктонного сообщества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Интенсивность поля биолуминесценции в темное время суток подвержена периодическим изменениям.
2. Методом разложения в ряд Фурье выделены гармонические составляющие изменения интенсивности поля биолуминесценции в темное время суток в прибрежных водах г. Севастополя и рассчитаны их амплитудно-фазовые характеристики.
3. Найдено, что основной вклад в изменения интенсивности поля биолуминесценции вносят первая, третья и пятая гармоники.
4. Установлено, что первая гармоника характеризует нарастание интенсивности поля биолуминесценции в темное время суток и убывание его в утренние часы, а третья и пятая гармоники характеризуют периодические изменения интенсивности поля биолуминесценции, вызванные эндогенными циркадными ритмами светящегося планктона в темное время суток

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела биофизической экологии за содействие в обеспечении проведенных исследований.

Список литературы

1. Битюков Э.П., Василенко В.И., Серикова И.М., Токарев Ю.Н. Результаты и перспективы исследования биолуминесценции в Черном море // Экология моря. — 1996. — Вып. 45. — С. 19 — 25.

2. Гительзон И.И., Левин Л.А., Утюшев Р.Н., Черепанов О.А., Чугунов Ю.В. Биоломинесценция в океане. — С.-Петербург: Гидрометеиздат, 1992. — 283 с.
3. Черепанов О.А., Левин Л.А., Утюшев Р.Н. Связь биоломинесценции с биомассой и численностью светящегося и всего планктона. Баренцево и Норвежское море // Мор. экол. журн. — 2007. — Т. 6, Вып. 1. — С. 55 — 65.
4. Halberg F., Reinberg A. Rythmes circadian a rythmes de basses frequences en physiologie humaine // J. Physiol. — Paris, 1967. — No 59. — P. 117 — 202.
5. Mizoguchi, T., K. Wheatley, Y. Hanzawa, L.Wright, M. Mizoguchi et al. LHY and CCA1 are partially redundant genes required to maintain circadian rhythms in Arabidopsis // Dev. Cell. — 2002. — No 2. — P. 629 — 641.
6. Бурмистрова Н.В., Токарев Ю.Н., Василенко В.И., Жук В.Ф. Организация и проведение биофизического мониторинга планктонного сообщества прибрежной акватории Севастополя: первые результаты. Современные проблемы морской инженерной экологии (изыскания, ОВОС, социально-экономические аспекты) // Междунар. науч. конф.: Тез. докл., Ростов н/Д, 9 — 11 июня 2008 г. — Ростов н/Д: ЮНЦ РАН, 2008. — С. 59 — 62.
7. Мельникова Е.Б., Бурмистрова Н.В. Применение кластерного анализа для структуризации сообществ биоломинесцентных гидробионтов // Ученые записки ТНУ. Серия «Биология, химия». — Симферополь, 2011. — Т. 24(63) № 4. — С. 156 — 165.
8. Мельникова Е.Б., Токарев Ю.Н., Лямина Н.В. Закономерности изменения интенсивности поля биоломинесценции прибрежных водах Чёрного моря // Гидробиол. журн. — 2013. — Т. 49, № 1. — С. 112 — 120.
9. Бокс Дж., Дженкинс Г. Анализ временных рядов. Прогноз и управление: / Пер. с англ. — М.: Мир, 1974. — 408 с.
10. Дженкинс Г.М., Ваттс Д.Г. Спектральный анализ и его приложения. — М.: Мир, 1972 — Вып. 2. — 287 с.
11. Кей С.М., Марпл С.Л. Современные методы спектрального анализа: Обзор. // ТИИЭР. — 1981. — Т. 69, № 11. — С. 5 — 51.
12. Sullivan J. M., Swift E. Photoinhibition of mechanically stimulated bioluminescence in the autotrophic dinoflagellate, *Ceratium fusus* (Pyrophyta) // J. Phycol. — 1994. — V. 30. — P. 633 — 637.
13. Tokarev Yu.N., Williams R., Piontkovski S.A. Small-scale plankton patchiness in the Black Sea euphotic layer // Hydrobiologia. — 1998. — V. 375/376. — P. 363 — 367.
14. Ведерников В.И., Микаелян А.С., Столбова Н.Г. Суточные изменения фитопланктона в прибрежных водах северо-восточной части Черного моря // Исследования океанического фитопланктона. — М.: Наука, 1985. — С. 77 — 93.
15. Грезе В.Н. Суточные изменения фитопланктона в Черном море // Основы биологической продуктивности Черного моря / Под ред. В.Н. Грезе. — Киев: Наук. думка, 1979. — С. 79 — 85.
16. Пионтковский С.А., Петипа Т.С. Элективность в питании *Acartia clausi* (Giesbr.) // Биология моря. — Киев: Наук. думка, 1975. — Вып. 33. — С. 3 — 10.
17. Ланская Л.А. Суточный ход деления некоторых видов планктонных водорослей Черного моря в культурах // Биология и распределение планктона южных морей. — М.: Наука, 1967. — С. 16 — 21.
18. Ковалев А.В. Зоопланктон. 1. Мезозоопланктон // Планктон Черного моря / Под. ред. А.В. Ковалева. — Киев: Наук. думка, 1993. — С. 144 — 165.
19. Столбова Н.Г., Ведерников В.И., Микаелян А.С. Суточный ритм деления динофлагеллят в Черном море // Океанология. — 1982. — Т. 22, № 3. — С. 492 — 495.

Мельникова О.Б. Выявления методом разложения у ряд Фур'е біологічних ритмів гідробіотних спільнот / О.Б. Мельникова, Н.В. Ляміна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. — 2013. — Т. 26 (65), № 2. — С. 133-140.

За результатами експериментальних досліджень встановлено, що поле біоломінесценції, сформоване гідробіотними спільнотами в темний час доби в прибережних водах Чорного моря схильне періодичним змінам. Методом розкладання в ряд Фур'е виділені основні гармонійні складові зміни поля біоломінесценції і розраховані їх характеристики. Показано, що гармонійні складові обумовлені біологічними ритмами гідробіотного спільноти.

Ключові слова: поле біоломінесценції, аналіз Фур'е, гармонійні складові, біологічні ритми, Чорне море.

Melnikova E.B. Revelation by the Fourier series expansion of the biological rhythm hydrobiont communities / E.B. Melnikova, N.V. Lyamina // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 133-140.

According to the results of experimental studies have established that the field of bioluminescence, formed hydrobiont communities in the dark in the coastal waters of the Black Sea is subject to periodic changes. The method of Fourier series highlights the major harmonic components of change in the field of bioluminescence and calculate their performance. It is shown that the harmonic components caused by biological rhythms hydrobiont community.

Keywords: field of bioluminescence, Fourier analysis, the harmonic components, the biological rhythms of the Black Sea.

Поступила в редакцию 16.05.2013 г.

УДК 612.88:612.886:612.017.2):796.83

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗЕРВОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У БОКСЁРОВ РАЗНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ

Минин В.В., Минина Е.Н.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: tnu-fr@rambler.ru*

У боксёров с различным уровнем вестибулярной устойчивости и квалификации (n=117) были выявлены достоверные различия функциональных резервов, количественно выраженные коэффициентом вестибуло-вегетативной адаптивности, который может использоваться для ранжирования боксёров по степени их приспособительных возможностей.

Ключевые слова: коэффициент вестибуло-вегетативной адаптации, вариационная пульсометрия, вестибулярная устойчивость, боксеры.

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение высокого уровня тренированности напрямую связано с совершенствованием регуляторных механизмов в ответ на внешние раздражители. Ведущее значение в сложной нейродинамике, лежащей в основе реакций равновесия, ориентации в пространстве и координации движений в динамических условиях бокса, принадлежит вестибулярному анализатору и сложной системе безусловных вестибулосоматических и вестибуловегетативных рефлексов [1, 2, 3]. Вестибуловегетативные реакции осуществляются через мозжечок и ретикулярную формацию, которая посылает импульсы к гипоталамо-гипофизарному комплексу, регулирующему сердечно-сосудистую, дыхательную системы, температуру тела, водно-солевой обмен, эндокринные и другие функции.

Известно, что при длительном действии вестибулярных раздражителей участие вегетативных компонентов в ответных реакциях организма резко возрастает и может привести к возникновению реакции напряжения [4]. При этом включается весь комплекс защитно-восстановительных реакций, что значительно повышает «цену» адаптации. Следовательно, вестибулярное раздражение является типичным стрессовым фактором, вызывающим в организме характерные для этого фактора реакции. Такие неблагоприятные реакции могут возникать при длительном специфическом раздражении вестибулярной сенсорной системы, в том числе у боксёров. В этих случаях снижается функциональная устойчивость вестибулярной сенсорной системы и ее чувствительность, что вызывает не только неадекватные вегетативные реакции, но и нарушение точности выполнения перемещений тела в пространстве. Уровень указанных изменений связан с исходным функциональным состоянием вестибулярной системы во взаимосвязи с вегетативной регуляцией, что

предполагает возможность активного воздействия на эти системы в процессе тренировочных занятий с целью повышения функциональных возможностей и расширения резервов [5, 6, 13]. Особенностью вестибулярного аппарата является возможность его тренировки, основу которой должны составлять упражнения, подавляющие тонические и вегетативные рефлексы, а также упражнения на координацию и равновесие [7, 8]. Ранее было выявлено, что у боксёров, регулярно выполняющих упражнения для совершенствования вестибулярных реакций, наблюдается различная степень вестибулярной устойчивости [6, 9, 10], которой соответствует разный уровень напряжения регуляторных механизмов.

В этой связи, оценка резервов вегетативной регуляции в ходе тренировочного процесса является важной медико-биологической задачей, решение которой имеет прикладное значение в спортивной физиологии, олимпийском и массовом спорте. В то же время в литературе незначительно отражена роль сенсорных систем в тренировочном процессе спортсменов, и особенно, в отдельных видах спорта. Следовательно, недостаточно учитывается тот факт, что сенсорные системы играют ведущую роль в организации произвольных движений человека (и их регуляторного обеспечения), начало которых предваряется "афферентным синтезом" и сопровождается коррекцией программы движений соответственно сведениям от сенсорных систем об изменяющихся условиях внешней и внутренней среды организма.

Целью данной работы явилось проведение сравнительной характеристики резервов вегетативной регуляции у боксёров разной квалификации и с различным уровнем вестибулярной устойчивости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 117 спортсменов мужского пола 19-27 лет, занимающихся боксом, которые были разделены на 2 группы. В первую группу вошли 67 квалифицированных спортсменов, стаж занятий спортом которых составлял от 3 до 9 лет. Во вторую группу (начинающих) вошли 50 мужчин занимающихся боксом в течение года. Для определения уровня вестибулярной устойчивости и разделения спортсменов по уровню вестибулярной устойчивости определялся коэффициент по формуле: $K_u = ЧСС1 / ЧСС2$, где K_u – коэффициент устойчивости $ЧСС1$ – частота сердечных сокращений после теста „бой с тенью”, $ЧСС2$ – частота сердечных сокращений после вестибулярной нагрузки [10]. В таблице 1 указано количество обследованных боксёров, разделённых в соответствии с уровнем вестибулярной устойчивости и квалификацией.

Таблица 1

Распределение исследованных в соответствии с уровнем вестибулярной устойчивости и квалификацией (кол-во человек)

Квалификация\Уровень	Устойчивый уровень	Компенсированный уровень	Недостаточный уровень
Квалифицированные	25	22	20
Начинающие	9	21	20

Значение $K_u < 0,5$ соответствовало компенсируемому уровню, $K_u = 0,5 - 1,5$ - устойчивому, $K_u > 1,5$ - недостаточному уровню. В каждой группе изучали динамику индекса напряжения по Баевскому после проведенной кардиоинтервалографии с помощью аппаратного комплекса «Cardiolife». Индекс напряжения (ИН) вычислялся по формуле $ИН = A_{Mo} / (2\Delta x \cdot Mo)$, где Mo (Мода) - число наиболее часто встречающейся продолжительности R-R интервалов среди 100 последовательных за 100 R-R интервалов в секундах; A_{Mo} (амплитуда моды) - количество значений Mo за 100 R-R интервалов; Δx - разность максимального и минимального значения R-R интервалов за 100 R-R интервалов).

Для выявления адекватности вегетативного обеспечения деятельности организма, исследования проводили как в состоянии покоя, так и после вестибулярной нагрузки (вращательной пробе по Воячеку на кресле Барани). Определяли показатели спектрального анализа: мощность высокочастотных колебаний (HF, %), низкочастотных колебаний (LF, %), и вычисляли коэффициент ваго-симпатического баланса (LF/HF, %). Так же определяли коэффициент вегетовестибулярной адаптивности ($K_{вва}$), количественно отображающий регуляторные резервы: $K_{вва} = ИН_{в} / ИН_{п}$, где $ИН_{п}$ - индекс напряжения в покое, а $ИН_{в}$ - индекс напряжения после вращательной пробы [11].

Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы STATISTICA V.6.0. Для оценки достоверности отличий использовали критерии Уайта и Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одно из важных мест в полианализаторном обеспечении статокINETической координации принадлежит вестибулярному анализатору, который является быстрым и специфическим информатором о положении гравитационной вертикали при перемещении тела, обеспечивая при этом ориентацию тела и перераспределение мышечного тонуса. Как показали наши исследования, у спортсменов с различным стажем тренировочной деятельности и исходным уровнем вестибулярной устойчивости регуляторное обеспечение при вестибулярной нагрузке имело свои особенности. Коэффициент вегетовестибулярной адаптивности ($K_{вва}$), количественно отражающий резервы вегетативной регуляции при вестибулярной нагрузке, был значимо ниже у квалифицированных боксёров, независимо от исходного уровня вестибулярной устойчивости (Рис.1.).

Таким образом, длительность тренировочного процесса являлась важной детерминантой адекватного адаптационного ответа, а оптимизация вестибуломоторных, вестибуловегетативных и вестибулосенсорных реакций в процессе тренировочной деятельности, обеспечивала совершенствование технического мастерства и повышение общей и специальной физической подготовленности боксёров.

Вторым фактором, определявшим регуляторные резервы, явился исходный уровень вестибулярной устойчивости, предопределяющий соответственные адаптационные сдвиги.

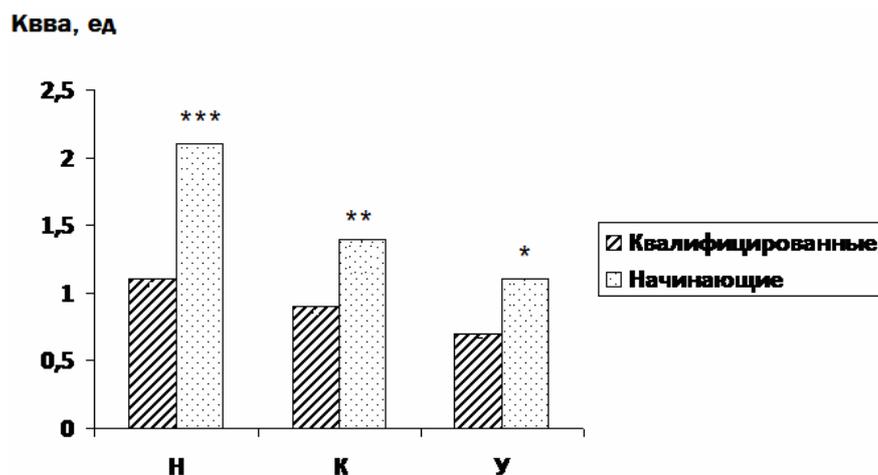


Рис.1. Коэффициент вегето-вестибулярной адаптивности у боксёров разной квалификации с различным уровнем вестибулярной устойчивости

Примечание: Н - недостаточный уровень вестибулярной устойчивости, К - компенсированный уровень вестибулярной устойчивости, У - устойчивый уровень вестибулярной устойчивости, * - достоверные различия по критерию Уайта между квалифицированными и начинающими спортсменами

Так, в предыдущих работах [12], было показано, что высокая реактивность сердечнососудистой системы у квалифицированных боксёров с неустойчивым уровнем не позволяла им адекватно адаптироваться к моделируемой вестибулярной нагрузке, что приводило к напряжению механизмов регуляции.

Интересно отметить, что вагосимпатический баланс в группе квалифицированных боксёров с устойчивым уровнем после вестибулярной нагрузки оставался стабильным в диапазоне 1,5 усл. ед., в группе с компенсируемым уровнем - увеличивался в среднем в два раза, ($p < 0,05$), а с недостаточным - снижался, ($p < 0,05$), (Рис.2).

Так же было выявлено, что динамика реакций вегетативной нервной системы при устойчивом и компенсированном уровнях вестибулярной устойчивости у спортсменов с различным стажем проявляла однотипность: при устойчивом - показатель LF/HF не изменялся, при компенсированном - незначительно увеличивался.

Особый интерес представил сравнительный анализ коэффициента вагосимпатического баланса и его изменения при вестибулярной нагрузке у боксёров различной квалификации с недостаточным уровнем.

Как показали наши исследования, у квалифицированных боксёров с недостаточным уровнем вестибулярной устойчивости в процессе регулярных тренировок происходят определённые адаптационные перестройки, заключающиеся в активации парасимпатической части вегетативной нервной системы и увеличении её вклада при обеспечении деятельности.

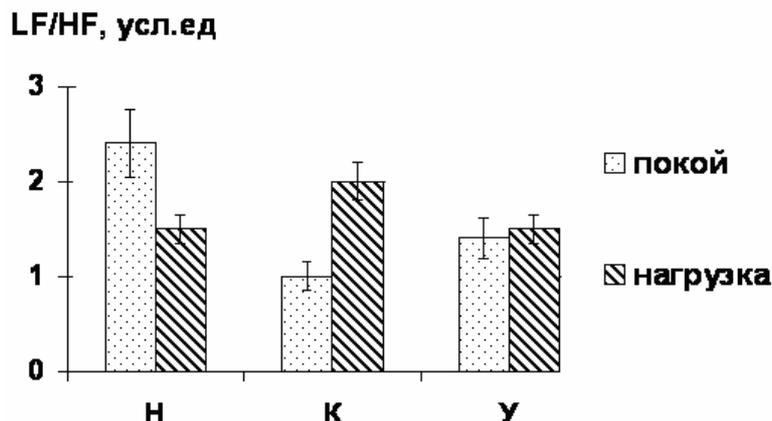


Рис.2. Коэффициент вагосимпатического баланса в группах квалифицированных боксёров с разным уровнем вестибулярной устойчивости в покое и при моделируемой вестибулярной нагрузке.

Примечание: LF/HF, % - коэффициент ваго-симпатического баланса, Н – боксёры с недостаточным уровнем вестибулярной устойчивости, К- боксёры с компенсируемым уровнем вестибулярной устойчивости, У- боксёры с устойчивым уровнем вестибулярной устойчивости.

Напротив, начинающие боксёры с недостаточным уровнем, при вестибулярной нагрузке проявляли признаки регуляторного дисбаланса, приводящего или в отсутствии реакции при исходной ваготонии, или гиперреакции при исходной симпатикотонии (Рис.3.).

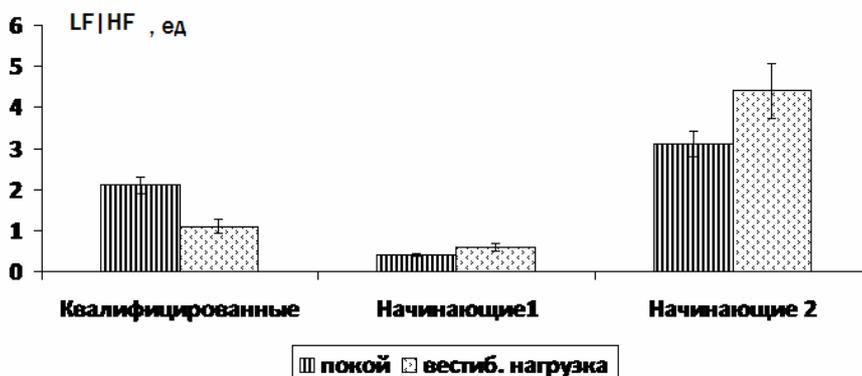


Рис.3. Показатель ваго-симпатического баланса в группах квалифицированных и начинающих боксёров с недостаточным уровнем

Примечание: Начинающие 1 – группа начинающих боксёров, проявивших ареактивный ответ на вестибулярную нагрузку, Начинающие 2 - группа начинающих боксёров, проявивших гиперреактивный ответ на вестибулярную нагрузку

Таким образом, вестибулярная устойчивость обуславливала реакцию сердечнососудистой системы на моделируемую вестибулярную нагрузку, а

различия вегетативных реакций в группах с различным уровнем вестибулярной устойчивости у боксёров подтверждали роль вестибуло-вегетативных взаимодействий и их совершенствования. Вероятно регуляторные особенности и их деформации являлись детерминантой выделения степени вестибулярной устойчивости у боксёров, а накопление резервов вегетативной регуляции в процессе тренировочной деятельности обеспечивало оптимизацию адаптационного ответа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленная закономерность взаимовлияния факторов «Вестибулярная устойчивость – Вегетативная регуляция» предполагает возможность активного воздействия на эти системы в процессе тренировочных занятий с целью повышения их функциональных свойств и имеет важное практическое значение для методически правильного проведения тренировочного процесса как для квалифицированных боксёров в спорте высших достижений, так и в массово-оздоровительных занятиях.

Список литературы

1. Болобан В. А. Система обучения движениям в сложных условиях поддержания статодинамической устойчивости: Автореферат, диссертация доктора педагогических наук / В. А. Болобан – К., 1990 – 42 с.
2. Гурфинкель В. С., Левик Ю.С. Сенсорные комплексы и сенсорная интеграция / В. С. Гурфинкель, Ю. С. Левик // Физиология человека. - М.: 1981, № 3. - С 400.
3. Лапутин А. Н. Совершенствование технического мастерства спортсменов высокой квалификации / А. Н. Лапутин // Наука в Олимпийском спорте. - М.: 1997. - С 78-83.
4. Кисляков В. А., Орлов И. В. Вестибулярная система / В. А. Кисляков, И. В. Орлов // Физиология сенсорных систем. - Л.: Медицина, 1976. - 400 с.
5. Платонов В. А. Общая теория подготовки спортсменов в олимпийском спорте / В. А. Платонов - К.: Олимпийская литература. - 1998. - 582 с.
6. Стрелец В. Г. Теория и практика управления вестибуломоторикой человека в спорте и профессиональной деятельности // В. Г. Стрелец, А. А. Горелов / Теория и практика физ. культуры. – 1996. – №5. – С. 13–16.
7. Приймаков А. А. Структурно-функциональная организация взаимодействия систем организма при регулировании позы и движения человека: Автореферат, диссертация доктора биологических наук / А. А. Приймаков - К.: 1996. - 32 с.
8. Ровний А.С. Сенсорні механізми управління точнісними рухами людини. - Харків: Харківський державний інститут фізичної культури. - 2001. - 205 с.
9. Сышко Д.В. Вестибулярные реакции у спортсменов // Д.В. Сышко / Монография. – Симферополь, Феникс, 2005. – С.61–184.
10. Сышко Д. В. Способ определения функционального состояния и вестибулярной устойчивости у боксеров // Д. В. Сышко, В.В. Минин / патент на винахід №78519, зареєстрован в Державному реєстрі патентів України на винаходи 10 квітня 2007 р
11. Мініна О. М. Спосіб визначення адаптаційного резерву вегетативної регуляції організму жінок / Е.Н. Минина // Патент на корисну модель №62696, Бюл.№17, 12.09.2011.
12. Минин В. В. Сравнительный анализ вестибуло-вегетативной адаптивности у боксеров с различным уровнем вестибулярной устойчивости / В. В. Минин // Вісник Запорізького національного університету. – 2012. – № 2(8). – С. 245-249.
13. Bretz K., Lee C. Static balance and motor coordination in elderly.: /Eds./ Hakkinenk., Keskinen K.L., Komi P., Mero A. - 1998 - pp 128-129.

Мінін В.В. Порівняльна характеристика резервів вегетативної регуляції у боксерів різної кваліфікації / **В.В. Мінін, О.М. Мініна** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 141-147.

У боксерів з різним рівнем вестибулярної стійкості та кваліфікації (n=117) були виявлені достовірні відмінності функціональних резервів, кількісно виражені коефіцієнтом вестибуло-вегетативної адаптивності, який може використовуватися для ранжирування боксерів за ступенем їх пристосувальних можливостей.

Ключові слова: коефіцієнт вестибуло-вегетативної адаптації, варіаційна пульсометрія, вестибулярна стійкість, боксери.

Minin V.V. The comparative characteristic of vegetative regulation reserves of boxers with different qualification / **V.V. Minin, E.N. Minina** // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 141-147.

Do boxers with different levels of resistance (n=117) were identified vestibular significant differences in functional reserve ratio quantified vestibulo-autonomic adaptability that can be used to rank fighters by their adaptive capacity.

Keywords: coefficient of vestibule-vegetative adaptation, variation pulsometry, vestibular stability, boxers.

Поступила в редакцію 18.05.2013 з.

УДК 612.172/.176.4-073.97

АНАЛИЗ ВОЛНЫ Т ЭКГ В ФАЗОВОМ ПРОСТРАНСТВЕ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ МИОКАРДА

Минина Е.Н.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: tnu-fr@rambler.ru*

Проведено исследование 70 здоровых лиц и проанализирован показатель симметрии зубца Т (β T) ЭКГ, зарегистрированной в первом отведении с помощью програмно-технического комплекса «ФАЗАГРАФ®», реализующего инновационную технологию обработки и анализа ЭКГ на фазовой плоскости координат. Выявлена высокая чувствительность β T в определении диастолических соотношений и динамике ударного объема при физической нагрузке.

Ключевые слова: обработка и анализ ЭКГ на фазовой плоскости координат, симметрия зубца Т, физическая нагрузка, реография, диастолический индекс.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что сердечно-сосудистая система является чувствительным индикатором всех происходящих в организме процессов, а ее деятельность может рассматриваться как показатель адаптационных реакций [1]. При этом насосная функция сердца во многом определяет возможность организма адекватно адаптироваться при увеличении нагрузки различной природы, а структурно-функциональное состояние миокарда формирует его инотропную функцию в обеспечении сердечного выброса. Важное значение в этом процессе играет реполяризация желудочков, нарушение которой приводит к электрической неоднородности миокарда и падению сократительной способности, напряжению функционального состояния и снижению адаптационных возможностей [2]. Как известно именно форма волны Т зависит от длительности и величины трансмембранных потенциалов действия в различных зонах миокарда [3].

При отсутствии патологии сердца следует говорить о существовании определенного функционального резерва миокарда, который может быть мобилизован для реализации механического сокращения при предъявлении к сердцу дополнительных требований (например, при физической нагрузке) [4]. В случае же страдания сердечной мышцы этот резерв может быть затрачен на компенсацию нарушенной функции сердца, причем еще до появления признаков сердечной недостаточности.

Выявление сниженных функциональных резервов миокарда и их количественная оценка имеет важное диагностическое значение в своевременном предотвращении возникновения заболеваний сердца, при оптимальном дозировании

физических упражнений и определении эффективности реабилитационных мероприятий

С этой целью актуальным является использование новых диагностических технологий, основанных на достижениях математической науки и реализованных в технически-инновационных приборах, которые позволяют совместить точность и быстроту измерений, повысить эффективность исследований и реабилитационного процесса. Современные компьютерные технологии регистрации и анализа ЭКГ в этом отношении являются перспективными. На протяжении ряда лет в Международном научно-учебном центре информационных технологий и систем (МНУЦ ИТИС) НАН и МОН Украины разрабатывается оригинальная технология регистрации и обработки ЭКГ на фазовой плоскости координат, которая реализована в программно-техническом комплексе «ФАЗАГРАФ®». Этот метод позволяет одновременно оценивать как амплитудные, так и скоростные параметры любых элементов электрокардиосигнала, что дает возможность с высокой точностью оценивать форму электрокардиограммы и обнаруживать такие отклонения, которые обычно скрыты при традиционном анализе ЭКГ. Также было показано, что анализ формы волны Т в фазовом пространстве существенно повышает чувствительность и специфичность электрокардио-ографического обследования [5].

Целью данной работы явилось исследование возможности использования показателя симметрии волны Т (βT) для количественной оценки функциональных резервов миокарда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях принимали участие 70 человек (35 женщин и 35 мужчин) разного возраста и уровня тренированности. С помощью велоэргометра моделировали тренировочную нагрузку (75 % от максимального потребления кислорода (МПК)) в течение 30 минут. В продолжение нагрузочного теста исследовали параметры кардиогемодинамики с помощью метода импедансной реографии с использованием прибора Reo Com Standart. Анализировали ударный объем (УО, мл) и систолическую (A_c , мВ) и диастолическую (A_d , мВ) амплитуды. Вычисляли диастолический индекс (DI, ед.) по формуле $DI = A_d / A_c$. Регистрацию и анализ ЭКГ в фазовом пространстве проводили с помощью программно-технического комплекса «ФАЗАГРАФ®», в котором реализована оригинальная информационная технология обработки электрокардиосигнала в фазовом пространстве с использованием идей когнитивной компьютерной графики и методов автоматического распознавания образов. Пальцевые электроды комплекса позволяют быстро фиксировать сигнал и не затрудняют нагрузочное тестирование. Сущность технологии анализа ЭКГ в фазовом пространстве состоит в том, что в каждой точке временного сигнала $x(t)$ числовым методом оценивают его первую производную dx/dt и всю последующую обработку осуществляют на фазовой плоскости в координатах $x(t)$ - dx/dt . Анализировали симметрию зубца Т (βT , ед).

Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы STATISTICA V.6.0. Для оценки достоверности отличий

использовали t-критерий Стьюдента. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе нашего исследования у исследуемых с различным уровнем физической подготовленности и тренированности с помощью велоэргометра «HausFit» была смоделирована тренировочная нагрузка аэробной направленности (75% МПК) длительностью 30 минут.

Количественно изменения напряжения миокарда определяли увеличением показателя βT . Как выявили наши исследования, динамика показателя симметрии волны Т при смоделированной нагрузке значительно отличались у тренированных и нетренированных исследуемых, а также у лиц различных возрастных групп. Так, показатель βT к концу нагрузочного теста относительно исходного состояния у спортсменов оставался стабильным, в молодом и среднем возрасте увеличился до 50,0 %, ($\leq 0,001$), а в старшей возрастной группе до 35 % ($\leq 0,05$) при исходно высоком его значении (Табл. 1).

Таблица 1
Показатели функционального напряжения миокарда в покое и при физической нагрузке, ($\bar{x} \pm Sx$), n=70

№	Показатели, условия и единицы измерения	Спортсмены 20-26 лет, (n=15)	Нетренированные		
			Возраст, лет		
			20-25, (n=25)	30-40, (n=20)	50-55, (n=10)
1	βT , ед покой	0,62±0,09	0,78±0,08*	0,79±0,09***	0,91±0,10***
2	βT , ед 75% МПК 15 мин	0,67±0,09	0,86±0,08**	1,01±0,09***	1,15±0,10***
3	βT , ед 75% МПК 30 мин	0,72±0,08	1,08±0,11***	1,19±0,10***	1,27±0,12***
	Достоверность p 1-2			$\leq 0,01$	
	Достоверность p 1-3		$\leq 0,01$	$\leq 0,01$	$\leq 0,05$

Примечание: βT – симметрия зубца Т; * - различия показателей достоверны по сравнению с тренированными ($p < 0,05$); ** - ($p < 0,01$); *** - ($p < 0,001$)

При этом частота сердечных сокращений (ЧСС) у спортсменов не превышала 110 ударов в минуту, отражая достаточные резервы инотропной функции миокарда в обеспечении физической работы в течение 30 минут. В группах нетренированных ЧСС находилась в пределах до 160 ударов в минуту. Такая нагрузка соответствовала аэробной направленности физической тренировки и являлась оптимальной.

На втором этапе для выявления механизмов увеличения функционального напряжения миокарда исследовали динамику ударного объема (УО) на протяжении нагрузочного тестирования. Как известно, в условиях умеренной нагрузки УО быстро возрастает за счет резервного объема (РО) крови. По мере утомления при увеличении общего объема нагрузки, возможность использования РО крови уменьшается, и прирост УО значительно замедляется. С дальнейшим возрастанием нагрузки, когда полностью исчерпан РО, УО прекращает увеличиваться. Если

нагрузка превышает индивидуальный уровень МПК, УО уменьшается за счет снижения эффективности наполнения сердца при большей ЧСС [6].

С целью анализа динамики УО была дополнительно обследована группа исследуемых из числа нетренированных в количестве 48 человек. В эту группу «риска» с проявлениями функционального напряжения миокарда вошли лица, показатель βT у которых к концу нагрузки достиг или превысил единицу.

Как видно из рисунка 1, к концу нагрузочного теста было выявлено падение УО, что свидетельствовало о снижении сократительной способности миокарда и сопровождалось ростом показателя симметрии зубца Т ($\leq 0,01$).

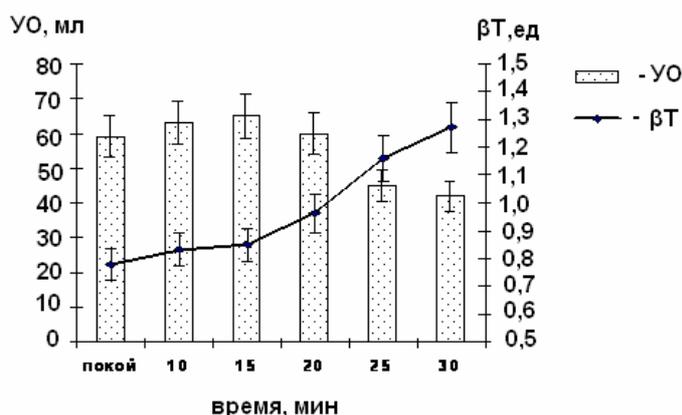


Рис. 1. Динамика показателей ударного объема и симметрии зубца Т в течение тренировочной нагрузки в дополнительной* группе

Примечание: * - группа, в которой показатель βT на 30 мин $> 1,0$

Таким образом, увеличение показателя βT выше 1,0 ед. свидетельствует о снижении возможности миокарда к сокращению, истощению его резервов при выполнении физической нагрузки.

Как известно, адаптационный потенциал миокарда обеспечивается оптимальными диастолическими соотношениями. При этом необходимо отметить, что диастолические маркеры точнее систолических отражают функциональное состояние миокарда и его резерв, а также надежнее других гемодинамических параметров могут быть использованы для оценки адаптационных возможностей [7]. Вероятно, биохимической основой нарушения диастолы можно считать энергодифицит, возникающий при ишемии. Доказано, что при постепенном нарушении энергообразования, расслабление изолированного сердца изменяется раньше, чем снижаются показатели систолической функции [8]. Именно поэтому изменения диастолических показателей считают наиболее ранними маркерами уязвимости миокарда и нарушения функционального состояния сердечной мышцы. Изменения показателей расслабления миокарда на ранних доклинических стадиях могут происходить при относительно стабильном процессе сокращения [9].

Нами была проанализирована динамика диастолического индекса (DI) в дополнительной группе с повышенным показателем волны Т, относительно

контрольной группы спортсменов. Были выявлены значительно низкие показатели DI как в покое, так и в течение нагрузочного теста в группе «риска» (рис. 2). При этом показатели старшей возрастной группы были достоверно меньшими относительно двух других групп ($\leq 0,05$; $\leq 0,01$).

В результате проведения корреляционного анализа была выявлена высокая степень взаимосвязи показателей DI и βT , ($r = -0,78$, $p < 0,05$). Данный факт свидетельствует о прогностическом значении показателя βT для определения диастолических взаимоотношений, отражающихся на функциональных резервах миокарда.

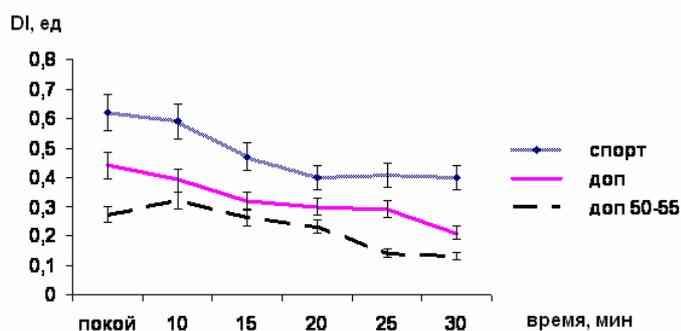


Рис.2. Динамика диастолического индекса (DI) в дополнительной группе и в группе спортсменов

Примечание: спорт-группа спортсменов; доп – дополнительная группа исследованных 19 – 40 лет, βT после нагрузки $> 1,0$; доп 50 – 55 – дополнительная группа исследованных 50 – 55 лет, βT после нагрузки > 1 ,

Таким образом, динамика показателя βT позволяет количественно проанализировать адекватность нагрузки в течение тренировочного процесса и оценить уровень функциональных резервов миокарда

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Программно-технический комплекс «ФАЗАГРАФ®» позволяет совместить точность и быстроту измерений, повысить эффективность исследований и реабилитационного процесса.
2. Количественно изменения напряжения миокарда возможно определять увеличением показателя βT , степень которого отражает функциональные резервы кардиодинамики.
3. Показатель βT к концу нагрузочного теста относительно исходного состояния у спортсменов оставался стабильным, в молодом и среднем возрасте увеличился до 50,0 %, ($\leq 0,001$), а в старшей возрастной группе до 35 % ($\leq 0,05$) при исходно высоком его значении.
4. При увеличении общего объема физической нагрузки в группе нетренированных было выявлено падение УО, что свидетельствовало о снижении сократительной способности миокарда и сопровождалось ростом показателя симметрии зубца Т ($\leq 0,01$).

5. Была выявлена высокая степень взаимосвязи показателей DI и βT , ($r = -0,78$, $p < 0,05$), что свидетельствовало о прогностическом значении показателя βT для определения диастолических взаимоотношений, отражающихся на функциональных резервах миокарда.

Список литературы

1. Агаджанян Н. А. Проблемы адаптации и учение о здоровье / Н. А. Агаджанян, Р. М. Баевский, А. П. Берсенева – М.: Изд-во РУДН, 2006. – 284 с)
2. Халфен Э. Ш. Клиническое значение исследования скоростных показателей зубца Т ЭКГ / Э. Ш. Халфен, Л. С. Сулковская // Кардиология. – 1986. – № 6. – С. 60-62.
3. Гошка С.Л. Изменение амплитуды зубца Т и длительности интервала Tpeak-Tend на электрокардиограмме у человека при проведении пробы Вальсальвы / С. Л. Гошка, К. А. Седова, А. О. Овечкин, Я. Э. Азаров // Вестник Уральской медицинской академической науки – 2009. – №2 (25). – С. 321-322.
4. Комаров Ф.И. Начальная стадия сердечной недостаточности / Ф. И. Комаров, Л. И. Ольбинская -М. Медицина, 1978. – 37 с.
5. Файнзильберг Л. С. Компьютерная диагностика по фазовому портрету электрокардиограммы / Л. С. Файнзильберг. – К. Освита Украины, 2013. – 190 с.
6. Карпман В. Л. Исследование физической работоспособности у спортсменов / Карпман В. Л., Белоцерковский З. Б., Гудков И. А. – М.: ФиС, 1974. – 95 с.
7. Терещенко С. Н. Клинико-патогенетические и генетические аспекты хронической сердечной недостаточности и возможности медикаментозной коррекции: дисс. докт. мед. наук. / С. Н. Терещенко – М., 1998. – 281 с.
8. Агеев Ф. Т. Влияние современных медикаментозных средств на течение заболевания, качество жизни и прогноз больных с различными стадиями хронической сердечной недостаточности: дисс. докт. мед. наук. / Ф. Т. Агеев – М., 1997. – 241 с.
9. Никитин Н. П. Особенности диастолической дисфункции в процессе ремоделирования левого желудочка сердца при хронической сердечной недостаточности / Н. П. Никитин, А. Л. Аляви // Кардиология – 1998; №3 – С. 56-61.

Мініна О.М. Аналіз хвилі T ЕКГ у фазовому просторі у визначенні функціональних резервів міокарда / О.М. Мініна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 148-153.

Проведено дослідження 70 здорових осіб і проаналізовано показник симетрії зубця Т (βT) ЕКГ, зареєстрованої в першому відведенні за допомогою програмно-технічного комплексу «ФАЗАГРАФ®», реалізуючого інноваційну технологію обробки та аналізу ЕКГ на фазовій площині координат. Виявлена висока чутливість βT у визначенні діастолических співвідношень, що відбилися на динаміці ударного об'єму при фізичному навантаженні.

Ключові слова: обробка та аналіз ЕКГ на фазовій площині координат, симетрія зубця Т, фізичне навантаження, реографія, діастолічний індекс.

Minina E.N. ECG T wave analysis in the phase space in the determining the functional of reserves of myocardium / E.N. Minina // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 148-153.

A study of 70 healthy subjects and analyzed indicator of symmetry of the T wave (βT) ECG recorded in the first abduction by program-technical complex "FASEGRAPH®" that implements innovative technology to the processing and analysis of ECG in the phase plane coordinates. Revealing the high sensitivity βT in determining systolic diastolic ratio, which is reflected in the dynamics of stroke volume during exercise.

Keywords: processing and analysis of ECG in the phase plane coordinates, the symmetry of the T wave, exercise, rheography, diastolic index.

Поступила в редакцію 16.03.2013 г.

УДК 543.395:582.26/.27

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ АНИОННОГО И КАТИОННОГО ДЕТЕРГЕНТОВ НА РОСТ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛИ *PLATYMONAS VIRIDIS*

Парфенова И.А.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: Antares_Irina@ukr.net*

Исследовали влияние катионных и анионных детергентов на состояние накопительных культур микроводорослей *Platymonas viridis*. В качестве анионного детергента применяли додецилсульфат натрия (SDS), а катионного – тетрадецилтриметаммоний бромид (TDTMA) в концентрационном диапазоне 0-1 мг л⁻¹. Показано, что TDTMA оказывает существенное влияние на темпы роста культуры *Platymonas viridis*: угнетение ростовых процессов отмечали при концентрации TDTMA 0.25 мг·л⁻¹. При 0.50 мг·л⁻¹ эффект приобретал достоверные значения. SDS в указанном концентрационном диапазоне не оказывал значимого влияния на состояние культур *Platymonas viridis*.

Ключевые слова: морские микроводоросли, накопительные культуры, детергенты.

ВВЕДЕНИЕ

К категории детергентов относят различные химические вещества [1, 2]. По характеру поведения в водных средах их разделяют на три группы [3]. В первую группу входят ионогенные детергенты, диссоциирующие в воде на ионы. Среди ионогенных различают анионные, катионные и амфолитные (или амфотерные). Во второй группе ПАВ – неионогенные соединения, растворимость которых в воде обусловлена не диссоциацией, а образованием водородных связей между молекулами воды и кислородом ПАВ. Отдельную группу синтетических ПАВ составляют высокомолекулярные соединения, включающие большое количество звеньев, каждое из которых содержит как полярные, так и неполярные группы.

Особый интерес представляет изучение мембранотропного эффекта детергентов, который проявляется в нарушении структуры и повышении проницаемости биологических мембран клеток. Следствием этих изменений является как накопление в клетках водорослей посторонних соединений, так и выход наружу эндобиополимеров. В этой связи представляет интерес сравнить действие анионных и катионных детергентов, которые должны иметь различное сродство к цитоплазматическим мембранам клеток [4].

В настоящей работе представлены результаты сравнительных исследований действия анионного детергента додецилсульфата натрия (SDS) и катионного ПАВ – тетрадецилтриметаммоний бромида (TDTMA) на рост микроводоросли *Platymonas viridis* в накопительной культуре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали альгологически чистую культуру зеленой микроводоросли: *Platymonas viridis*, предоставленную отделом физиологии водорослей ИнБИОМ НАН Украины. В качестве инкубационной среды применяли среду Гольдберга в модификации Кабановой [5]. В количестве 40 мл ее вносили в конические колбы объемом 100 мл. Образцы, не содержащие детергентов, служили контролем, а в остальные добавляли SDS и TDTMA до конечных концентраций 0,25; 0,5 и 1,0 мг·л⁻¹. Затем в инкубационные среды вносился инокулят маточной культуры в количестве 0,5 мл. Эксперименты выполнены в трехкратной повторности. Культивирование проводилось при температуре – 18-22 °С и круглосуточном освещении при помощи лампы дневного света SYLVANIA интенсивностью 1500 люкс. Экспозиция – 6-7 суток. Ежедневно в культурах проводился контроль численности клеток путем измерения оптической плотности клеточной взвеси при 750 нм [6]. Расчет числа клеток осуществлялся по калибровочному графику. Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента (t) и методов корреляционного и регрессионного анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Действие SDS. Исходная плотность культуры после внесения инокулята составила 0.133 (10³) клеток в мкл. При оптимальном освещении рост культуры происходил в течение всего периода наблюдений – 142 часов, однако он был неравномерен. В состоянии культуры можно было выделить две последовательные фазы: лаг-период и период устойчивого роста (рис. 1). Лаг-период наблюдался в течение 25-ти часов. Рост культуры в этот период времени был крайне незначительным. Оптические плотности были близки к исходным значениям. Период устойчивого роста культуры продолжался в течение последующих 25-142 часов. Рост культуры был равномерным на протяжении всего периода наблюдений. Динамика роста культуры описывалась уравнением линейной регрессии: $y = ax + b$ (рис. 1). Значения коэффициентов a и b представлены в таблице 1.

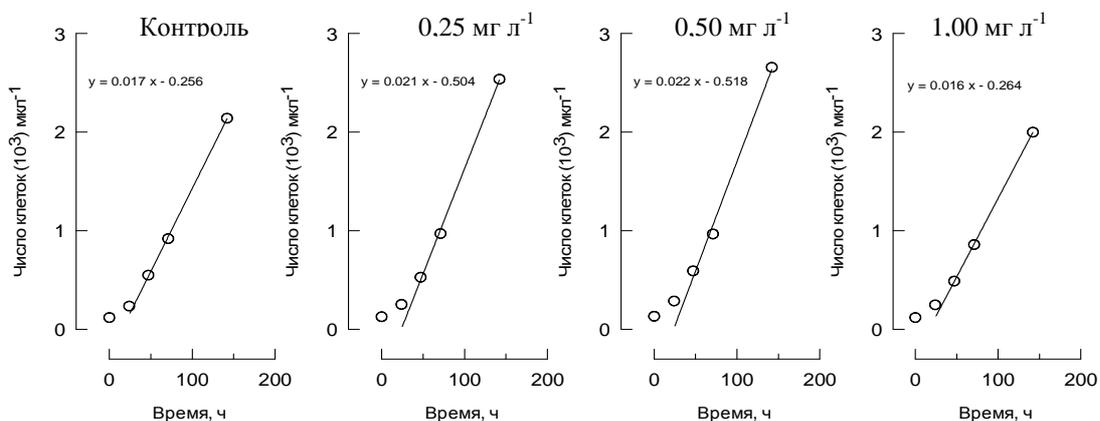


Рис. 1. Динамика роста накопительных культур *Pl. viridis* при различных концентрациях SDS в культуральной среде

Введение в питательную среду SDS в концентрациях 0.25-1.0 мг·л⁻¹ не оказывало значимого влияния на темпы ее роста и величины конечной численности клеток в культуре. Значения коэффициентов a и b , рассчитанные для всех концентраций SDS, были близки к контрольным величинам. Имеющиеся различия не были статистически достоверны.

Таблица 1

Параметры уравнения роста культуры *Pl. viridis* при различных концентрациях SDS

Концентрация SDS, мг л ⁻¹	Уравнение ($y = ax + b$)	
	a	b
Контроль	0,017±0,002	-0,272±0,124
0.25	0,020±0,001	-0,442±0,066
0.50	0,019±0,001	-0,223±0,017
1.00	0,018±0,002	-0,232±0,024

Действие TDTMA. Исходная плотность клеток в культуре после внесения инокулята была ниже, чем в случае с SDS и составила 0.034-0.047 (10³) клеток на мкл. В кривой роста также выделялся лаг-период длительностью 50 часов. Период интенсивного роста культуры наблюдали в течение 50-209 часов (рис. 2). Рост был равномерным на протяжении всего периода наблюдений. Динамика роста также описывалась уравнением линейной регрессии.

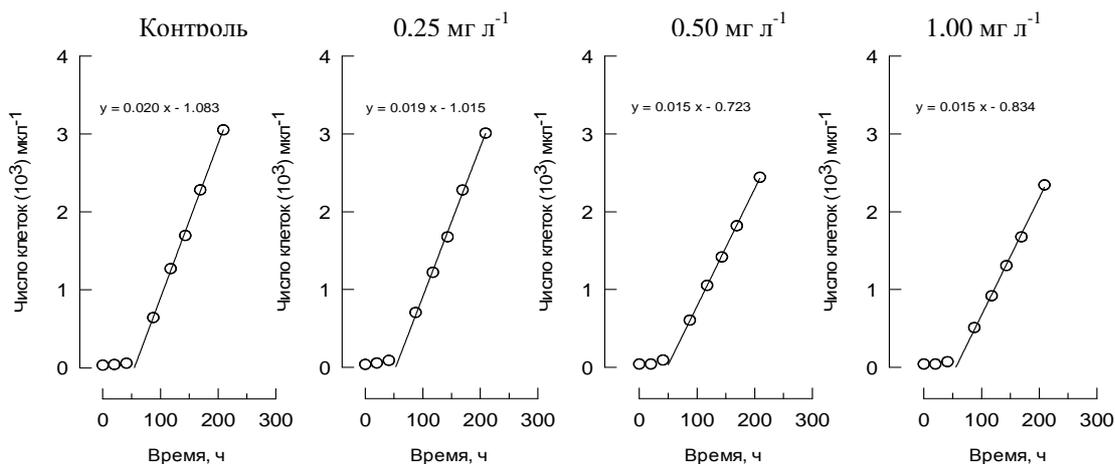


Рис. 2. Динамика роста накопительных культур *Pl. viridis* при различных концентрациях TDTMA в культуральной среде

В отличие от вариантов с SDS, внесение в культуральную среду TDTMA оказывало негативное действие на состояние культур *Pl. viridis*. Это видно из значений углового коэффициента, которые проявляли обратную зависимость по отношению к концентрации детергента в среде. При концентрации TDTMA 1.0 мг·

л¹ различия с контрольными культурами достигали статистически значимых величин ($p < 0,05$).

Таблица 2

Параметры уравнения роста культуры *Pl. viridis* при различных концентрациях TDTMA

Концентрация TDTMA, мг·л ⁻¹	Уравнение ($y = ax + b$)	
	<i>a</i>	<i>b</i>
Контроль	0,021±0,001	-1,128±0,036
0.25	0,018±0,001	-0,973±0,029
0.50	0,016±0,002	-0,918±0,179
1.00	0,014±0,002	-1,069±0,188

Как отмечалось ранее, TDTMA и SDS относятся к ионогенной группе ПАВ. Известно, что эта группа детергентов оказывает неоднозначное влияние на культуры микроорганизмов. Эффект катионных ПАВ более выражен, чем анионных [3], что совпадает с результатами настоящей работы и позволяет предположить наличие общих механизмов токсического действия этих видов соединений на клеточные системы.

Анализ результатов проведенного исследования свидетельствует о том, что при равных концентрациях TDTMA и SDS в среде культивирования они проявляют разный характер действия на клетки микроводорослей. SDS не вызывает угнетение ростовых характеристик культуры *Platymonas viridis* при всех изученных концентрациях от 0 до 1 мг·л⁻¹, но это не означает, что при более высоких концентрациях SDS эффект также будет отсутствовать. TDTMA, напротив, подавляет темпы клеточного деления культур *Platymonas viridis* при сохранении устойчивого характера их роста. При этом прослеживалась явно выраженная концентрационная зависимость: при концентрации TDTMA 0.25 мг·л⁻¹ эффект был выражен слабо, тогда как при 0.5 и 1.0 мг·л⁻¹ он пропорционально усиливался.

Ингибирование роста водорослей под влиянием детергентов может быть следствием ряда нарушений их структур и метаболизма [3]. Во-первых, ПАВ относятся к числу устойчивых органических соединений, характеризующихся токсичностью и высокими коэффициентами биологической аккумуляции. Во-вторых, детергенты могут оказывать влияние на пигментный комплекс водорослей и его фотосинтетическую активность. Какой из этих процессов является определяющим, сказать на данный момент сложно, и это требует дальнейшего изучения. Известно, что действие ПАВ реализуется преимущественно на уровне клеточных мембран [3]. Высокая чувствительность культуры *Platymonas viridis* к катионному детергенту позволяет предположить, что на поверхности оболочек ее клеток должны доминировать отрицательно заряженные химические группы, способствующие ассоциации катионного детергента с клеткой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Катионный ионогенный детергент – тетрадецилтриметаммоний бромид, подавляет темпы роста накопительной культуры микроводоросли *Platymonas viridis* в концентрационном диапазоне от 0 до 1 мг·л⁻¹ пропорционально увеличению его содержания в питательной среде.
2. Действие анионного ионогенный детергента – додецилсульфата натрия, в сходном концентрационном диапазоне на накопительную культуру микроводоросли *Platymonas viridis* не было выражено.
3. Синтетические препараты ПАВ, содержащие катионные ионогенные соединения, с экологической точки зрения, должны быть более опасными, чем анионные.

Список литературы

1. Остроумов С.А. Введение в биохимическую экологию / С.А. Остроумов. - М.: Изд-во МГУ, 1986. –176 с.
2. Поверхностные явления и поверхностно-активные вещества (справочник). – Л.: Химия, 1984. –392 с.
3. Паршикова Т.В. Влияние ПАВ на водоросли / Т.В. Паршикова, С.Ф. Негрудский // Гидробиол. ж. – 1988. – Т.24, №6. – С. 46-57.
4. Гроздов А.О. Биотестирование поверхностно-активных веществ / А.О. Гроздов, М.В. Переладов, А.И. Старцева // Биотест. природ. и сточ. вод. – М.: Наука, 1981.- С. 64-69.
5. Кабанова Ю.Г. Органический фосфор, как источник питания фитопланктона / Ю.Г. Кабанова // Тр. Ин-та Океанологии. –1968. –Вып. 1. –С. 16-24.
6. Минюк Г.С. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) в накопительной и квазинепрерывной культурах / Г.С. Минюк, Р.П. Тренкеншу, А.В. Алисиевич, И.В. Дробецкая // Экология моря. –2000. Вып. 54. –С. 42-49.

Парфенова І.О. Порівняльна оцінка дії аніонного і катіонного детергентів на зростання накопичувальних культур микроводорості *Platymonas viridis* / І.О. Парфенова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 154-158.

Досліджували вплив катіонних і аніонних детергентів на стан накопичувальних культур микроводоростей *Platymonas viridis*. Як аніонний детергент застосовували додецилсульфат натрію (SDS), а катіонний – тетрадецилтриметаммоній бромід (TDTMA) в концентраційному діапазоні 0-1 мг·л⁻¹. Показано, що TDTMA значно впливає на темпи зростання культури *Platymonas viridis*. Пригноблення ростових процесів відзначали при концентрації TDTMA 0.25 мг·л⁻¹. При 0.50 мг·л⁻¹ ефект був статистично виражений. SDS у вказаному концентраційному діапазоні не чинив значимого впливу на стан культур *Platymonas viridis*.

Ключові слова: морські микроводорості, накопичувальні культури, детергенти.

Parfenova I.A. Comparative assessment of anionic and cationic detergent on the growth of cumulative microalgae cultures *Platymonas viridis* / I.A. Parfenova // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 154-158.

Influence of cationic and anionic detergents on the accumulation of cultures of microalgae *Platymonas viridis*. As anionic detergent used sodium dodecylsulfat (SDS) and cation-tetradecyltrimetammonium bromide (TDTMA) in the concentration range of 0-1 mg·l⁻¹. It was shown, that TDTMA has a significant impact on the growth of a culture of *Platymonas viridis*. Oppression growth processes observed at a concentration of 0.25 mg·l⁻¹ TDTMA. When 0.50 mg·l⁻¹ the effect was statistically expressed. SDS in a specified concentration range had no significant effects on the cultures of *Platymonas viridis*.

Keywords: морские микроводоросли, накопительные культуры, детергенты.

Поступила в редакцию 16.03.2013 г.

УДК 543.635.24:616.15-006

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙТРАЛЬНОЙ И ЗАРЯЖЕННОЙ ФРАКЦИЙ СВОБОДНЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ СУБЛЕЙКЕМИЧЕСКОМ МИЕЛОЗЕ

Письменецкая И.Ю.¹, Баттерс Т.Д.²

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия», Днепропетровск, Украина

²Институт гликобиологии Оксфордского университета, Оксфорд, Великобритания

E-mail: pirina2004@list.ru

Статья посвящена исследованию нейтральной и заряженной фракций свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом. Показано, что нейтральная фракция свободных олигосахаридов плазмы крови больных вероятнее всего представлена двухантенными и трехантенными полиманнозными N-гликанами, а главные пики заряженной фракции – двухантенными комплексными N-гликанами с одним или двумя остатками сиаловых кислот. Установлено повышение гетерогенности ВЭЖХ-спектров свободных олигосахаридов плазмы крови при данном заболевании. Во всех проанализированных образцах были обнаружены 3 отличительных пика, два из которых имеют значительно меньшую площадь в норме, а третий вообще отсутствует в спектре гликанов практически здоровых доноров. Наибольшие отличия наблюдались во фракции заряженных гликанов, в которой был обнаружен основной маркерный пик, полностью отсутствующий в норме.

Ключевые слова: свободные олигосахариды, ВЭЖХ-спектры гликанов, плазма крови человека, сублейкемический миелоз.

ВВЕДЕНИЕ

Внутриклеточные свободные олигосахариды – гетерогенная по структуре группа гликанов, которая появляется в процессе синтеза и деградации гликоконъюгатов [1]. Эту группу олигосахаридов можно разделить на 2 подгруппы в зависимости от заряда молекул – незаряженные (нейтральные) гликаны и заряженные (кислые). Заряд гликанов обусловлен присоединением остатков разнообразных кислот, как органических, так и неорганических. Среди органических кислот преобладают сиаловые, а среди неорганических – фосфорная и серная.

Наиболее изученные процессы, в ходе которых в клетке появляются свободные олигосахариды, – это синтез гликопротеинов в эндоплазматическом ретикулуме и их лизосомальный распад. Гликозилирование гликопротеинов в аппарате Гольджи, а также обмен других гликоконъюгатов с этой точки зрения изучен слабо.

Особенности синтеза гликопротеинов в эндоплазматическом ретикулуме обеспечивают появление свободных гликанов с четко определенным строением молекул [2]. Это могут быть полиманнозные двух- или трехантенные гликаны с

различной длиной антенн. Такой тип олигосахаридов может дополнительно содержать от одного до трех остатков глюкозы. Полиманнозные свободные олигосахариды, образующиеся внутри эндоплазматического ретикулума, не имеют заряда и относятся к группе нейтральных гликанов. На ранних этапах синтеза гликопротеинов на цитозольной стороне мембраны эндоплазматического ретикулума образуются фосфорилированные, т.е. заряженные, полиманнозные гликаны [3].

В ходе лизосомальной деградации гликопротеинов также образуются свободные олигосахариды определенной структуры [4]. Строение их отличается от гликанов эндоплазматического ретикулума, т.к. полностью определяется структурой гликоконъюгатов, углеводная часть которых чаще бывает комплексного или гибридного типа, нежели полиманнозного. Поэтому в данном случае отличаются и заряженные олигосахариды. Их заряд обусловлен наличием остатков сиаловых кислот, реже – серной кислоты, но не фосфорной.

Предыдущие работы авторов показали, что свободные олигосахариды присутствуют и в плазме крови [5]. Анализ строения гликанов плазмы здоровых и относительно здоровых доноров выявил аналогию с внутриклеточными свободными олигосахаридами [6, 7]. Следовательно, они могут отражать состояние внутриклеточных органелл – эндоплазматического ретикулума и лизосом.

Многие заболевания и патологические состояния живого организма связаны со стрессом тех или иных органелл клеток, что приводит к нарушению их функций. Пролиферативные заболевания системы кроветворения – не исключение [8]. Поэтому свободные олигосахариды плазмы крови могут оказаться полезными для диагностики и их лечения этих заболеваний.

В предшествующих исследованиях были получены ВЭЖХ-спектры общего пула свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом [9]. Целью данной работы было разделение этого пула на отдельные фракции в зависимости от заряда и их сравнение с аналогичными фракциями в норме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Плазма крови пациентов с диагностированным сублейкемическим миелозом (n=10) и относительно здоровых доноров (n=10) была отобрана с согласия обеих групп и в соответствии с требованиями этического комитета в клинике ГУ «Днепропетровская медицинская академия». Возраст относительно здоровых доноров соответствовал возрастной категории больных исследуемой группы и составлял от 40 до 65 лет.

Для нормальнофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии использовали реактивы фирмы VWR International, остальные химические реагенты были получены от фирмы Sigma-Aldrich.

Удаление белков плазмы. Депротеинизацию нативной плазмы крови проводили путем осаждения белков 10% трихлоруксусной кислотой с последующим центрифугированием в течение 10 минут при 3000 оборотах в минуту [10]. Остатки белков удаляли с помощью фильтра с гидрофильной

полифлуорэтиленовой мембраной (Millex-LH, 0.45 μm , Millipore Corp., США), в соответствии с опубликованной методикой [11].

Удаление глюкозы. Моносахариды из плазмы после депротеинизации удаляли адсорбционной хроматографией на пористом графите с использованием колонки PGC (Thermo Electron Corp., Runcorn, UK) на 1 мл (25 мг/мл), как описано в работе [11].

Маркирование олигосахаридов флуоресцентной меткой. Свободные олигосахариды метили 2-аминобензойной (антралиловой) кислотой (Sigma – Poole, Dorset, UK) в соответствии с методикой, приведенной в статье Neville D.C.A. et.al. [16]. Меченные гликаны очищали твердофазной экстракцией на колонках Speed SPE Cartridges Amide-2, (Applied Separations, США) [11].

Разделение олигосахаридов на фракции. Меченные антралиловой кислотой гликаны разделяли на нейтральные и заряженные (кислые) ионообменной хроматографией на QAE- Сефадексе (Q25-120) после нанесения их на колонку и промывки водой путем элюции нейтральных гликанов уксусной кислотой, а заряженных – ацетатом аммония в соответствии с методикой Neville D.C.A. et.al. [12].

Нормальнофазовая высокоэффективная хроматография (ВЭЖХ). Олигосахариды разделяли методом нормальнофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе фирмы Waters (Великобритания) с колонкой 4.6x250-mm TSK gel-Amide 80 (Anachem, Luton, Beds, Великобритания) в соответствии с методикой, приведенной в работах Neville D.C.A. et.al. [12, 13]. Пики хроматограмм выражали в глюкозных единицах (ГЕ) путем сравнения с хроматограммой внешнего стандарта – частично гидролизованного декстрана, как описано в статье Neville D.C.A. и др. [12].

Компьютерная обработка данных. Для сбора хроматографических данных и их обработки использовали компьютерные программы Waters Millennium, Waters Empower, Peak Time, Microsoft Office Excel 2003/2007, Microsoft Power Point 2003/2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе впервые были получены хроматографические спектры нейтральных и заряженных (кислых) свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом и проведено их сравнение со спектрами гликанов плазмы относительно здоровых доноров.

Исследовались олигосахариды, состоящие из 4 и более остатков моносахаридов, поэтому анализу подвергались хроматограммы на временном отрезке от 20 до 44 минут.

Результаты разделения общего пула свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом на 2 фракции, в зависимости от заряда гликанов (фракцию нейтральных олигосахаридов и фракцию отрицательно заряженных олигосахаридов), представлены на рисунке 1. В качестве контроля использовали спектр общей фракции свободных олигосахаридов плазмы крови относительно здоровых доноров (рис.1А), т.к. в предыдущих работах [5,7] была

показана его достаточная стабильность (воспроизводимость). Нумерация пиков на рисунке указана в соответствии с их нумерацией на контрольном спектре.

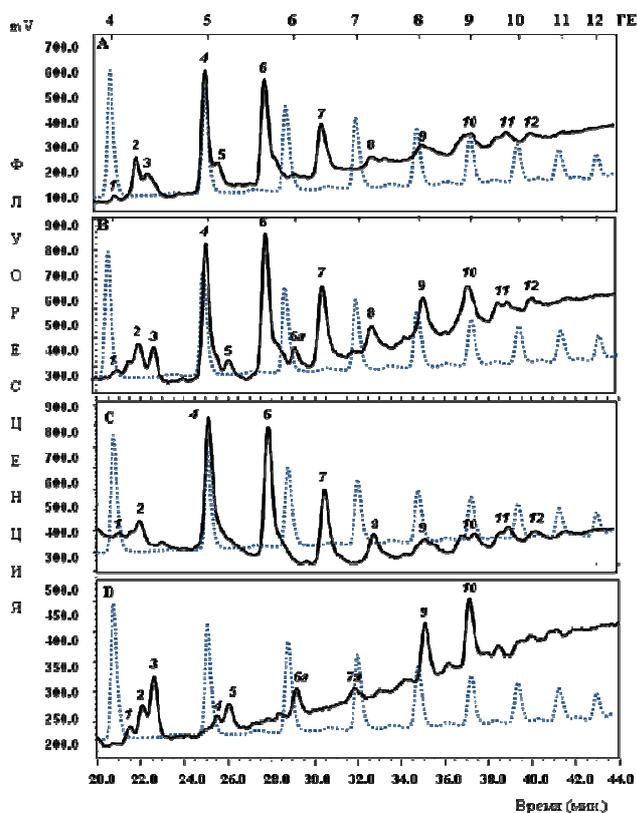


Рис.1. ВЭЖХ-спектры отдельных фракций свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом: А – контроль; В – общая фракция, С – нейтральная фракция, D – заряженная фракция.

Примечание: Пунктиром обозначены спектры внешнего стандарта - частично гидролизованного декстрана.

Анализ полученных фракций показал, что большая часть свободных олигосахаридов плазмы крови при сублейкемическом миелозе представлена фракцией нейтральных гликанов (рис.1С), которая включала все олигосахариды самых больших пиков (4-го, 6-го и 7-го), подавляющую долю пиков 1,2 и 8, а также значительную часть пиков 11 и 12. Гликаны 3-го, 5-го, 9-го и 10-го пиков также присутствовали в этой фракции, но в очень малых количествах.

Фракция заряженных (кислых) гликанов была менее гетерогенна и, т.к. она включала малые пики, то составляла по концентрации лишь небольшую долю от общего пула свободных олигосахаридов. В нее входили почти все гликаны 3-го, 5-го, 9-го и 10-го пиков, часть 1-го, 2-го и 4-го. Кроме того, только эта фракция

содержала пики ба и 7а, которые полностью отсутствовали во фракции нейтральных олигосахаридов.

Было проведено сравнение нейтральных и заряженных (кислых) свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом с аналогичными фракциями плазмы крови относительно здоровых доноров. На рисунке 2 показаны ВЭЖХ-спектры этих фракций в норме и при патологии.

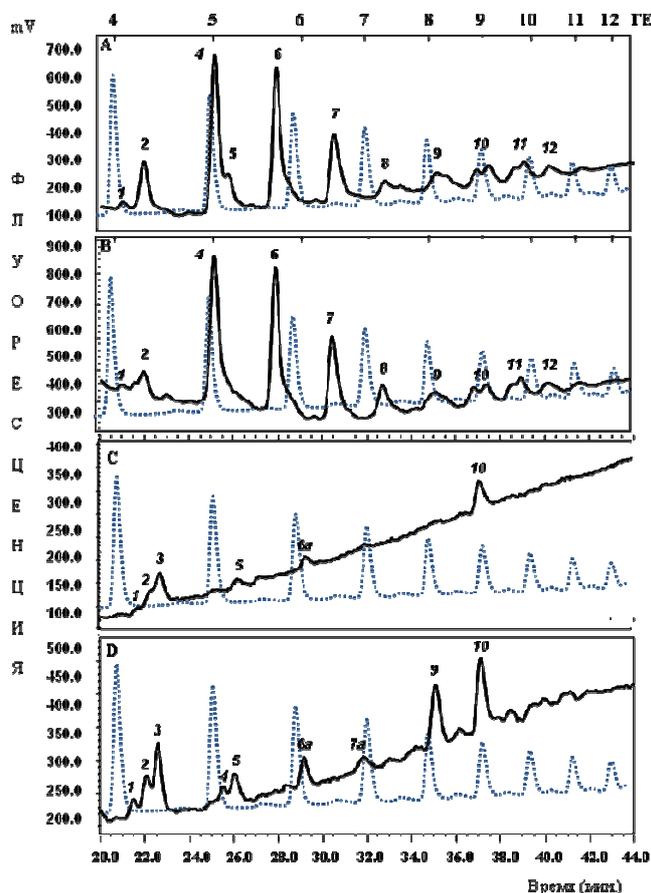


Рис.2. Сравнение ВЭЖХ-спектров нейтральных и заряженных свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом с нормой:

А – нейтральная фракция в норме; В – нейтральная фракция при сублейкемическом миелозе; С – заряженная фракция в норме; D – заряженная фракция при сублейкемическом миелозе.

Примечание: Пунктиром обозначены спектры внешнего стандарта - частично гидролизованного декстрана.

Различия между хроматографическими профилями нейтральных фракций (рис.2 А и В) минимальны и заключаются в изменении концентраций минорных пиков 5-

го и 8-го. Первый практически исчезает из спектра данной фракции, а второй, наоборот, увеличивается при исследуемом заболевании. Кроме того, намечаются новые пики – между 1-ым и 2-ым, а также за позицией 3-го пика, который в данной фракции отсутствует как в образцах, так и в контроле.

Значительно больше изменений при сублейкемическом миелозе происходит во фракции заряженных (кислых) олигосахаридов. Во-первых, наблюдается повышение концентрации всех без исключения выявляемых компонентов спектра. Во-вторых, появляются новые пики, отсутствующие в норме – 7а и 9. Особый интерес представляет 9-й пик, так как он четко прописывается в спектре анализируемых образцов, имеет достаточную для его идентификации концентрацию и полностью отсутствует в контроле.

В таблице 1 дана характеристика пронумерованных пиков в глюкозных единицах (ГЕ), а также показаны основные возможные структуры гликанов. Выбор этих структур был обоснован в предыдущей работе авторов [7] и опирался на анализ литературных данных и соответствующих электронных баз.

Таблица 1.
Характеристика основных пиков ВЭЖХ-спектров в глюкозных единицах (ГЕ)
с основными предполагаемыми структурами гликанов

№ пика	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ГЕ	4,08± 0,01	4,28± 0,01	4,40± 0,01	5,01± 0,01	5,17± 0,03	5,69± 0,01	6,40± 0,01	7,08± 0,01	7,85± 0,01	8,62± 0,02	9,40± 0,02	9,93± 0,03
Н Е Й Т Р А Л Ь Н Ы Е												
К И С Л Ы Е												

Нейтральная фракция вероятнее всего представлена двухантенными и трехантенными полиманнозными N-гликанами с остатками глюкозы или без них, с одним или двумя остатками N- ацетилгалактозамина. Следовательно, как и в норме, главным источником нейтральной фракции свободных олигосахаридов плазмы крови при сублейкемическом миелозе является эндоплазматический ретикулум и цитозоль клеток.

Значительно сложнее оказалось предсказать возможные структуры фракции заряженных гликанов. Наиболее вероятно, что 9-й и 10-й пики представлены двухантенными комплексными N-гликанами с одним или двумя остатками сиаловых кислот, соответственно. Источниками гликанов такого типа могут быть лизосомы. Однако для уточнения строения олигосахаридов заряженной фракции требуется более глубокий анализ.

В предыдущей работе [9] было показано, что характерной чертой ВЭЖХ-спектров свободных олигосахаридов при сублейкемическом миелозе является существенное увеличение 8-го (7,08 ГЕ), 9-го (7,85 ГЕ) и 10-го (8,62 ГЕ) пиков. Разделение олигосахаридов на фракции позволило установить, что 8-й пик вероятнее всего представлен полиманнозными структурами, т.к. относится к нейтральной фракции, а два остальных (9-й и 10-й) – сиалированными двухантенными комплексными гликанами, т.к. они идентифицируются во фракции заряженных олигосахаридов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые были получены ВЭЖХ-спектры нейтральной и заряженной фракций свободных олигосахаридов плазмы крови больных сублейкемическим миелозом и проведено их сравнение со спектрами гликанов плазмы относительно здоровых доноров..
2. Показано, что нейтральная фракция свободных олигосахаридов плазмы крови больных вероятнее всего представлена двухантенными и трехантенными полиманнозными N-гликанами, а главные пики заряженной фракции – двухантенными комплексными N-гликанами с одним или двумя остатками сиаловых кислот.
3. Установлено повышение гетерогенности ВЭЖХ-спектров свободных олигосахаридов плазмы крови при данном заболевании. Наибольшие отличия от нормы наблюдались во фракции заряженных гликанов.
4. Во всех проанализированных образцах были обнаружены 3 отличительных пика, два из которых имеют значительно меньшую площадь в норме (8-й и 10-й), а третий вообще отсутствует в спектре гликанов практически здоровых доноров (9-й). Этот маркерный пик представлен двухантенными комплексными N-гликанами с одним остатком сиаловой кислоты.

БЛАГОДАРНОСТИ

Образцы крови больных были любезно предоставлены для анализа врачом ГУ «Городская многопрофильная клиническая больница» Т.П.Николаенко-Камышовой. Работа была выполнена при поддержке международных грантов International Union Against Cancer ICREET (ICR/09/044), EMBO (ASTF201-2010) и Института гликобиологии Оксфордского университета (г.Оксфорд, Великобритания) в лаборатории доктора Терри Д. Баттерса (Terry D. Butters).

Список литературы

1. Varki A. Essentials of Glycobiology / A. Varki, R. Cummings, J.Esko [et al.]. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999.
2. Suzuki T. Free N-linked oligosaccharide chains: formation and degradation / T. Suzuki, Y. Funakoshi // *Glycoconj J.* – 2006. – Vol.23, № 5– 6. – P.291– 302.
3. Chantret I. Free oligosaccharide regulation during mammalian protein N-glycosylation / I. Chantret, S.E.H. Moore // *Glycobiology.* – 2008. – Vol.18, № 3. – P. 210–224.
4. Winchester B. Lysosomal metabolism of glycoproteins / B. Winchester // *Glycobiology.* – 2005. – Vol.15, № 6. – P.1R – 15R.
5. Письменецка І.Ю. Вільні олігосахариди плазми крові практично здорових донорів/І.Ю. Письменецка, Т.Д. Баттерс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012. –Т.25 (64), №1. – С.182–187.
6. Письменецка І.Ю. Хроматографічні спектри вільних олігосахаридів плазми крові здорових донорів /І.Ю.Письменецка// Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 58. – С. 74–79.
7. Письменецка І.Ю. Прогнозування структур вільних олігосахаридів плазми крові практично здорових донорів/І.Ю. Письменецка, Т.Д. Баттерс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012.–Т.25 (64) , №3. – С.158–164.
8. Liu Y. Proteostasis regulation at the endoplasmic reticulum: a new perturbation site for targeted cancer therapy / Y. Liu, Y. Ye // *Cell Res.* – 2011.– V.21, № 6. – P.867– 883.
9. Письменецкая И.Ю., Баттерс Т.Д. Изменение хроматографических спектров свободных олигосахаридов плазмы крови при сублейкемическом миелозе / І.Ю. Письменецка, Т.Д. Баттерс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013.–Т.26 (65), №1. – С.153–160.
10. Письменецка І. Вплив іммобілізації та депротейнізації плазми крові на спектр вільних олігосахаридів/І.Ю.Письменецка// Вісник Київського національного університету. Біологія. – 2012, Вип. 60. – С. 27–29.
11. Alonzi D.S. Glucosylated free oligosaccharides are biomarkers of endoplasmic- reticulum alpha-glucosidase inhibition / D.S. Alonzi, D.C. Neville, R.H. Lachman [et al.] // *Biochem J.* – 2008. – Vol.409, №2. – P.571–580.
12. Neville D.C. Analysis of fluorescently labelled glycosphingolipid-derived oligosaccharides following ceramide glycanase digestion and anthranilic acid labelling / D.C. Neville, V. Coquard, D.A. Priestman [et al.] // *Anal Biochem.*-2004. – Vol.331. – P.275–282.
13. Neville D.C. Development of a single column method for the separation of lipid- and protein-derived oligosaccharides / D.C. Neville, R.A. Dwek, T.D. Butters // *J. Proteome Res.* – 2009. – Vol.8. – P.681– 687.

Письменецька І.Ю. Динаміка змін нейтральної та зарядженої фракцій вільних олігосахаридів плазми крові на тлі сублейкемічного мієлозу / І.Ю. Письменецька, Т.Д. Баттерс // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 159-167.

Стаття присвячена дослідженню нейтральною і зарядженою фракцій вільних олігосахаридів плазми крові хворих на сублейкемічний мієлоз. Показано, що нейтральна фракція вільних олігосахаридів плазми крові хворих найімовірніше представлена двоохантними і трьохантними поліманозними N-гліканами, а головні піки зарядженої фракції - двоохантними комплексними N-гліканами з одним або двома залишками сіалових кислот. Встановлено підвищення гетерогенності ВЕРХ-спектрів вільних олігосахаридів плазми крові при даному захворюванні. У всіх проаналізованих зразках було виявлено 3 маркерних піки, два з яких мали значно меншу площу в нормі, а третій взагалі був відсутній в спектрі гліканів практично здорових донорів. Найбільші відмінності спостерігалися у фракції заряджених гліканів, в якій був виявлений основний маркерний пік, повністю відсутній у нормі.

Ключові слова: вільні олігосахариди, ВЕРХ-спектри гліканів, плазма крові людини, сублейкемічний мієлоз.

Pisnenskaya I.U. Dynamics of neutral and charged fractions of plasma free oligosaccharides in subleukemic myelosis / I.U. Pisenetskaya, T.D. Butters // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 159-167.

The article is devoted to a study of neutral and charged fractions of blood plasma free oligosaccharides of patients with subleukemic myelosis. The neutral oligosaccharide fraction of plasma free oligosaccharides of the patients is shown to be more likely represented by bi- and tri-antennary high mannose type N-glycans, and the main peaks of the charged fraction – by bi-antennary complex N-glycans with one or two sialic acid residues. The increasing heterogeneity of plasma free oligosaccharide HPLC-profiles was observed in this disease. In all the samples there were identified 3 distinctive peaks, two of which had a much smaller area in norm, and the third was absent in the control profiles. The greatest differences were revealed in the fraction of charged glycans, in which the main marker peak, completely absent in norm, was discovered.

Keywords: free oligosaccharides, HPLC-profiles of glycans, human blood plasma, subleukemic myelosis.

Поступила в редакцію 26.04.2013 г.

УДК 502.52 : 574.4 : 591.2

ПРИРОДНЫЕ ОЧАГИ ИНФЕКЦИЙ: СТРУКТУРА, РАЗМЕРНОСТЬ, ИЕРАРХИЯ, ТАКСОНОМИЯ

Русев И.Т.¹, Алексеев Е.В.²

¹Государственное учреждение «Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И. И. Мечникова», Одесса, Украина

²Российская экологическая академия, Симферополь, Украина

E-mail: rusevivan@ukr.net

В настоящее время одной из сложных проблем в вопросах природноочаговых болезней является вопрос о структуре и размерности различных пространственных единиц такой территории и принципах её таксономии. Большинство энзоотических территорий и границы их разделяющие, определяются с известной долей условности. Критериев, позволяющих чётко ограничить очаговую территорию от другой природно-территориальной разности, не так уж много, и зачастую они носят не столько конкретный эколого-географический, сколько чисто умозрительный характер. Используя системную парадигму, которая обуславливает широкое применение категорий «целое» – «часть» предлагается использовать системный подход в качестве методологической основы при изучении природного феномена – болезней с природной очаговостью. Методология системной оценки и мониторинга природных очагов инфекции должна быть основанна на иерархии их пространственной, временной и биоценотической организации.

Ключевые слова: природный очаг инфекций, чума, туляремия, районирование очаговых территорий.

ВВЕДЕНИЕ

Центральное общебиологическое положение теории природной очаговости болезней заключается в том, что популяции ряда возбудителей, как и любых других биологических видов, существуют в естественных условиях, будучи сочленами определенных природных экосистем [1]. Более того, из многих составляющих экосистемы, только популяция возбудителя – это обязательный и специфический компонент природного очага опасной болезни. Поэтому природным очагом называют любую естественную экосистему, включающую в качестве компонента популяцию возбудителя [2].

Вопросам районирования и типизации природных очагов различных природноочаговых заболеваний посвящено большое количество как специальных, так и обзорных работ по многим направлениям. Дискуссии по поводу правомочности этих направлений не имеют смысла, так как они, в конечном итоге, дополняют друг друга и служат основой для эпидемиологического и эпизоотологического районирования территории, выделения на местности территорий с природной очаговостью инфекций. Принципы и методы, на которых основываются исследователи и практики здравоохранения, занимающиеся вопросами пространственного районирования,

продолжают развиваться и совершенствоваться [3-14]. В этой связи работы, посвящённые вопросам районирования территории природноочаговых заболеваний, представляют определённый научный и практический интерес.

В настоящее время одной из сложных проблем в вопросах природноочаговых болезней является вопрос о размерности различных пространственных единиц такой территории и принципах её таксономии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве исходной информационной базы экологических, зоогеографических и лабораторных бактериологических исследований служили данные, которые получены в результате обработки и анализа многолетних (1975-2012 гг.) обследований территории различных природно-климатических зон по выявлению природных очагов чумы, туляремии и других природноочаговых заболеваний. Общий информационный объём составляет более 30000 проб-наблюдений, которые охватывают общую площадь более 500 тыс. кв. км. Информационным материалом по таким заболеваниям как чума и туляремия служили данные РосНИПЧИ «Микроб» (г. Саратов), Украинского научно-исследовательского противочумного института им. И.И.Мечникова (г.Одесса), а также многих санитарно-эпидемиологических и противочумных станций России, Украины и Казахстана. В работе использован картографический материал различного тематического содержания.

Весь собранный полевой и лабораторный материал позволил проверить наши предположения о пространственной приуроченности природных очагов отдельных особо опасных заболеваний к различным природно-территориальным комплексам (ПТК), в том числе и на трёхмерной модели ландшафтной сферы Земли [15, 16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ниже будут рассматриваться исключительно ПТК, на которых регистрируются заболевания животных и людей, которые вызываются циркулирующими здесь патогенными организмами (вирусы, риккетсии, бактерии и др.) т.е. на энзоотичных (по тому или иному заболеванию) территориях. Как правило, циркуляция и резервация патогенного начала на энзоотичной территории происходит без участия человека. Включение человека в эпизоотическую цепочку (возникновение зооантропоноза), следует рассматривать как случайность, ибо человек исторически не является обязательным компонентом природноочаговой территории.

Большинство энзоотичных территорий и границы их разделяющие, определяются с известной долей условности. При этом, исследователи чаще оконтуривают энзоотичную территорию, используя при этом некие естественные (географические), или искусственные (негеографические, чаще административные) границы. Критериев, позволяющих чётко ограничить очаговую территорию от другой природно-территориальной разности, не так уж много, и зачастую они носят не столько конкретный эколого-географический, сколько чисто умозрительный характер. Это положение налагает определённые трудности при определении и обоснованности пространственных выделов, из которых слагаются различные по размеру и кружеву территории с природной очаговостью опасных инфекций.

Ниже предпринята попытка обоснования характера местоположения и границ в пространственной (географической) и средообразующей (экологической) средах, а также размерности территориальных выделов и факторов их обуславливающих в различных ПТК.

В современной теории природной очаговости наиболее крупной природной территориальной единицей принято считать очаговый район, занимающий площади однотипных зональных ландшафтов [17] в пределах Палеарктики таких как, например: Среднеазиатский пустынный очаг чумы [11], Европейская группа очаговых регионов лиственных и смешанных лесов клещевого энцефалита [18], луговая зона природных очагов туляремии (в пределах луговой гидроморфной зоны) [9] и др.

Прежде чем перейти к анализу хорологической структуры и территориальным (размерностным) характеристикам очаговых территорий, следует обратиться к самому понятию «природный очаг инфекции».

Если «природный очаг инфекции» считать биологической системой (здесь и далее понятие «система» соответствует её общепринятому смысловому и философскому значению), то, как всякая система он должен иметь границы, отделяющие его от другой системы более высокого или низкого ранга. Кроме этого должны существовать экологические параметры среды (тоже имеют определённые границы), в которой он существует и с которой находится во взаимодействии. Однако если рассматривать понятие «природный очаг инфекции» более широко, как некое, именно системное образование, то приходится констатировать, что полного соответствия определению «система» здесь мы не находим. Анализу понятий «система» и «целое» – «часть» посвящено много специальных исследований [19-22], в которых авторы показывают неадекватность этих понятий. Поэтому, по нашему мнению, целесообразней, используя системную парадигму, которая обуславливает широкое применение категорий «целое» – «часть», применять этот подход в качестве методологической основы при изучении природного феномена – болезней с природной очаговостью (рис.1).

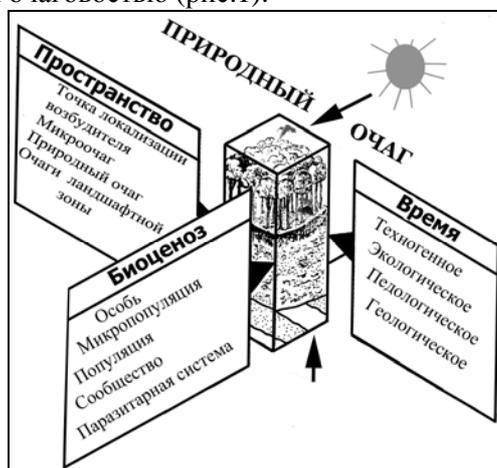


Рис.1 Методология системной оценки и мониторинга природных очагов инфекции, основанная на иерархии пространственной, временной и биоценотической организации

Природный очаг инфекции как «целое», может существовать только при определённой изолированности, обособленности от среды, которая выступает как нечто внешнее по отношению к нему, но с которой он находится во взаимодействии при помощи прямых и обратных связей. Природный очаг инфекции, как целостное пространственное образование, должен признаваться в пределах той среды, в которой он существует и находится в постоянном взаимодействии. Как следствие, познание внутренней структуры природного очага инфекции (включая носителей патогенного начала и его переносчиков), не может быть полным без изучения его взаимодействия с внешней по отношению к нему геологической и биологической средой. Взаимодействие очага со средой может осуществляться только через некие градиентные границы, так как его пространственное обособление определяется только внешними по отношению к нему самому факторами.

Однако следует отметить, что, рассматривая отдельный природный очаг инфекций или некую очаговую территорию как целостное образование в системе разных уровней организации природных систем, видно, что будут различия и границы географической и экологической среды (или фона) в пределах которых изучается или анализируется это «целое с проявлением свойств возбудителя» и части его составляющие. Нахождение и определение границ очаговой территории и составляющих её частей (кружево отдельных очагов в пределах очаговой территории), сводится по сути дела, к выявлению параметров географических сред и их инвариантов, которые обеспечивают существование каждого из этих, большего или меньшего по площади, природного феномена. При этом, любой из очагов, входящий в обобщающий их очаговый регион, объединяет сходный принцип организации биоценотического, пространственного и временного характера (см.рис. 1).

Отсутствие, например, какой-то определённой эпизоотии среди носителей возбудителя в одном из природных очагов региона в некоторый отрезок времени не означает ещё её отсутствие в этот же период в другом месте, но расположенном на этой же зональной очаговой территории. Спад эпизоотической активности в некоторой части региона неадекватен аналогичной ситуации в пределах всей территории природной очаговости. Так называемый «межэпизоотический период» для многих зоонозов, как временной интервал, может иметь различное значение в зависимости от территориальной размерности, на которой он констатируется и от экологии самого возбудителя. Ряд примеров показывает, что пространственно-временные особенности эпизоотийных проявлений носят неоднозначный характер и имеют существенные различия, в зависимости от их территориальной размерности [17].

В иерархии уровней соподчинённых между собой экосистем биосферы, биогеоценоз как «целое», находится на самом нижнем уровне. Взаимодействие «частей» нижнего уровня – биогеоценозов, может интегрировать некое «целое», которое является «частью» другого «целого», но стоящего уже на уровень выше. В нашем примере это будет биогеоценотический комплекс. Биогеоценотический комплекс, в свою очередь, является частью следующего «целого», но ещё более высокого уровня, например, урочища. Урочище уже является структурной частью некоего ландшафта и т. д. Таким образом, философское отношение «часть-целое-часть» как универсальное взаимоотношение предметов и явлений в природе,

целесообразно использовать и при исследованиях, которые связаны с пространственными особенностями в природной очаговости инфекций.

Обратимся к следующему понятию – «среда» – одному из фундаментальных понятий в теории и практике мониторинга. В нашем случае рассматривается природная (географическая) среда, которая определяется как природное окружение или совокупность природных условий, в которых протекает то или иное явление, в том числе и существование природного очага инфекции. Рассмотрим некоторые ландшафтообразующие факторы [23] – «среды», которые имеют важное значение в познании природной очаговости инфекций.

Тектоническая и климатическая среды являются основными, в которых существуют биологические системы (экосистемы) различного уровня организации. Тектоническая среда наиболее географична и подразделяется на 10 типов по действующим в них рельефообразующим силам и факторам [24]. Тектоническая среда, выраженная в рельефе, в сильнейшей степени влияет на перераспределение в ландшафте тепла и влаги. В различных формах рельефа климат ландшафта, претерпев ряд видоизменений (в сходных формах рельефа), при прочих равных условиях, сформирует сходные микро- и мезоклиматы, но они будут лишь инвариантами климата самого ландшафта. Таким образом, тектоническая среда определяет систему иерархически сопряжённых и, в то же время, дифференцированных природных явлений.

Почва и её климат являются важными географическими средами и имеют специфические особенности. Почвенный климат менее однороден, чем атмосферный и, в значительной мере зависит от элементов рельефа, атмосферно-климатических условий, сезонности и влияния антропогенного или зоогенного факторов. Почвенная среда, которая функционирует под воздействием тектонической и климатической сред, также как и они, подразделяется по масштабам проявлений тех или иных явлений, протекающих в этой среде [26].

Не останавливаясь отдельно на «биологической среде», которой посвящено много фундаментальных исследований, можно констатировать, что в природе существует комплекс средообразующих факторов и их инвариантов. Эти факторы и их инварианты находятся в определённых взаимоотношениях, образуя при этом единое целое – «географическую среду». В пределах географической среды существуют различные по размеру природно-территориальные комплексы (ПТК). Территориальной размерности ПТК соответствуют и мерности разделяющих их границ, которые имеют различную ширину, вертикальность, различие по профилю, зонам максимума и минимума и т. д. [4, 27-28]. ПТК одной размерности через свои границы взаимодействует с другими ПТК, интегрируя при этом некое новое «целое», но более высокого ранга, иной размерности и уже с иным набором средообразующих факторов. Следует заметить, что, несмотря на определённую иерархичность по отношению друг к другу ПТК различного иерархического ранга, полного пространственного и временного сведения их к единому целому не наблюдается, ибо каждой территориальной размерности свойственны свои масштабы явлений и их особенности. Разнообразие форм и размеров ПТК, если их воспринимать только физиономически, как правило, приводит к хаотичности восприятия и методологическим ошибкам.

Иерархическая размерность инвариантов природных сред по соответствующим рангам и сопоставление их с иерархией очаговых территориальных единиц представлены в таблице.

Таблица 1.

**Иерархические соотношения инвариантов сред и территориальных единиц
(Среды и их инварианты*)**

Ранги	Тектоническая среда	Климатическая среда	Почвенная среда	Биологическая среда	Территориальные единицы
	Морфо-структуры первого ранга (горные страны, древние платформы, карстовые пещеры, плоскогорья, равнины).	Система зональных климатов (тип атмосферной циркуляции, зональный тип погод, климат карстовых пещер)	Группа Зональных типов почв (гидротермические пояса, литологическая основа)	Природно-климатическая зона (зональный тип растительности, видовой состав фауны, специфика палеофауны)	Группа очаговых регионов (регионы рецентных и реликтовых очагов, зональные очаги)
2	Морфо-структуры второго ранга (хребты, мелко-сопочник, зональные карстовые пещеры, котловины, куэсты)	Климаты ландшафтов (позиционные и барьерные эффекты, зональные климаты пещер, экспозиции макросклонов)	Типы почв и их климат (классы подстилающих пород, уровень стояния грунтовых вод)	Группа типов ландшафтов (ландшафтные растительные ассоциации, группы популяций вида, подвидов)	Очаговый регион (однотипные группы очагов, очаговые территории, реликтовые очаги)
3	Морфо-структуры третьего ранга (отдельные хребты и пещеры, элементы пойм рек, макросклоны, котловины)	Мезоклимат, местный климат (фены, бризы, струйные течения, местная циркуляция атмосферы)	Почвенный мезоклимат (почвенные разности, инверсии температур)	Группа урочищ (тип местности) (биогеосистемы, отдельные популяции, ценозы простейших и др.)	Группа очагов (поселения, группа колоний, очаговая территория)
4	Морфо-скульптуры (экспозиция, крутизна и форма склонов, геологический покров)	Микроклимат (приземная инверсия температур, влажности; газовый состав воздуха наземных, водных и пещерных экосистем)	Почвенный микроклимат (механический состав, рН, микроэлементный и солевой состав, порозность, цветность и др.)	Биогеоценоз (растительные и почвенные фации, парцеллы, демы, колония, семья, биопленки, цисты, споры)	Отдельный очаг зооноза (ядро очага, нора, зона выноса возбудителя)

Примечание: * - Приведен примерный перечень инвариантов природных сред (по А.А. Григорьеву [28])

Как видно из таблицы, каждый ранг (от 1-го до 4-го) природных сред имеет специфические для своей размерности инварианты («части»), характеризующиеся определёнными качественными и количественными параметрами. В совокупности инварианты нижестоящего ранга интегрируют «целое», которое является инвариантом вышестоящего ранга. Каждому иерархическому рангу одной среды соответствует определённый набор параметров инвариантов другой среды.

В качестве примера можно привести зависимость, которая существует между тектоническими, климатическими, почвенными, биологическими средообразующими факторами и возникновением туляремии в пределах лугово-болотной гидроморфной зоны [7, 13] или эпизоотий чумы в пределах пустынной природно-климатической зоны [12, 14]. Указанная зависимость вполне согласуется с этими биологическими явлениями на территории той или иной местности (морфологической части ландшафта) т.е. в группе очаговых регионов. Группа очаговых регионов как «целое», включает различные типы очагов – «частей», которые является частью внутри определённых природно-климатических зон.

Зависимость активизации реликтовых очагов чумы от тектонических и гелиоклиматических факторов синхронно проявлялась на обширных территориях, включая Причерноморье и в самых протяженных в мире карстовых пещерах города Одессы на протяжении ряда временных циклов [12, 14, 22]. При влиянии таких экологических факторов возникали существенные электромагнитные и радиационные излучения, менялся гидрологический, солевой, газовый и микроэлементный состав палеобиогеоценозов. В результате таких системных изменений, дремлющий реликтовый очаг чумы активизировался, а люди, активно разрабатывающие каменоломни в карстовых пещерах, заражались чумой (рис.2).

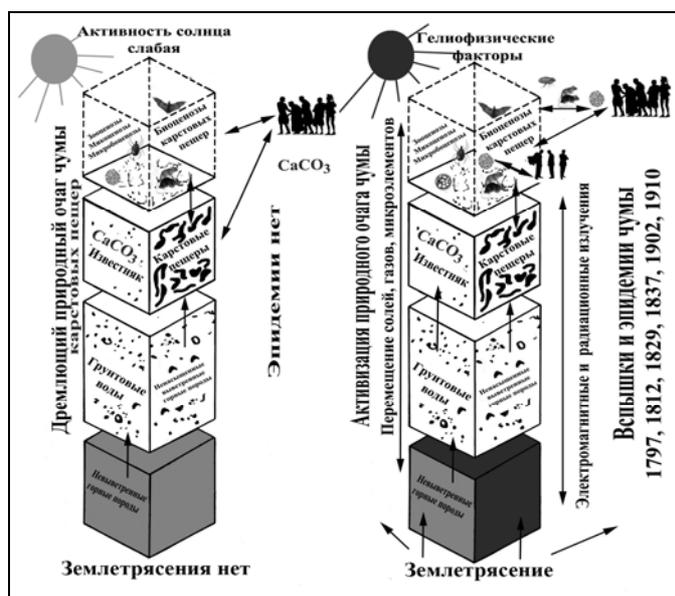


Рис. 2 Схема вероятной активизации дремлющего реликтового очага чумы под воздействием экологических факторов

Приведенный ряд сопоставлений по средообразующим факторам с учётом их инвариантов, показывает, что существует определённая пространственная количественная и качественная иерархичность элементов природы, степень воздействия которых сопоставима с определёнными территориальными выделами.

Существующая практика проведения границ различных территориальных выделов основывается на различных, чаще количественных данных обследования определённых территории, в том числе и при эпизоотологических обследованиях. Оконтуривание таких территорий проводится по периметру крайних точек обнаружения различных значимых (по причинности) явлений. Например, в эпизоотологии и медицинской географии границы опасных территорий (различных по размеру) оконтуриваются по периметру точек обнаружения инфицированных или позитивных носителей и переносчиков природно-очаговых инфекций. Эти методы не позволяют в полной мере учитывать биогеоценотические и географические (ландшафтные) особенности таких территорий, так как в этом случае не исследуется тот комплекс средообразующих факторов, которые являются необходимым для функционирования этих природных феноменов (очагов).

Иерархическая структура различных природно-очаговых территорий с учётом их ранга, даёт возможность характеризовать не только пространственные, но и временные показатели эпизоотического процесса. Чем выше иерархический ранг территориальной единицы, тем стабильнее (во временном аспекте) параметры средообразующих факторов, тем меньшее влияние оказывает на них антропогенная деятельность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Использование системного подхода при решении ряда практических вопросов в здравоохранении, в частности в области заблаговременной профилактики туляремии, чумы и других природно-очаговых заболеваний, способствует теоретической упорядоченности понятий и определений.
2. Различные по площади очаговые территории, представляют собой соподчинённое структурное экосистемное иерархическое единство, которое рассматривается одновременно в биоценотическом, пространственном и временном аспекте. В случае с зональными природными очагами (надсистемами) определённых инфекций, некоторые из их «частей» (в общей системе зонального очага) представляются относительно независимыми образованиями, однако независимость этих подсистем ограничена определённым временем.
3. Зональные природные очаги (надсистемы) по сути, являются конгломератом множества сходных подсистем («частей») более низкого ранга. Каждая совокупность вышестоящего ранга отличается образованием иной качественной и временной характеристикой. Именно в этом смысле состоит соподчинённость всей надсистемы с её подсистемами более низкого ранга.
4. Реликтовые природные очаги чумы Причерноморья представляют собой иерархическое экосистемное единство тектонической, климатической, педологической и биологической сред, взаимодействие и проникновение

влияние которых может приводить к активизации древних реликтовых очагов и их эпидемического проявления.

Список литературы

1. Павловский Е.Н. Учение о природной очаговости трансмиссивных болезней человека / Е.Н.Павловский // Журн. общ. биол. – 1946. – №1. – С.3–33
2. Алексеев Е.В. Феномен паразитизма / Е.В.Алексеев // Природ. Альманах: сер. биол. науки. – 2002. – Вып.2(3) – С. 67-72.
3. Алексеев Е.В. Природный очаг туляремии как биогеоценотическая функциональная система / Е.В.Алексеев // Эпизоотология природно-очаговых инфекций. Саратов, 1988. – С.68-74.
4. Алексеев Е.В. О границах энзоотичной по туляремии территории /Е.В.Алексеев // Всесоюзное Совещание по природно-очаговым болезням // М., 1989. – С.5-9.
5. Алексеев Е.В. Эколого-географическая характеристика природных очагов чумы (применение банка данных эпизоотологических обследований) / Е.В.Алексеев // Экология. – 1992. – № 2.– С. 45 –51.
6. Алексеев Е.В. О паразитоценозе как компоненте биогеоценоза / Е.В.Алексеев // Проблемы зооинженерии и ветеринарной медицины. – Харьков. – 2002. – вып. 7 (31). – С. 14 –16.
7. Алексеев Е.В. Гидроморфные ландшафты и их биогеоценозы как природные очаги особо опасных инфекций /Е. В. Алексеев // Уч. зап. Таврического нац. ун-та им. В.И. Вернадского. Симферополь. – 2008. – т. 21 (60). – № 2 – С. 100 –110.
8. Алексеев Е.В. Марсельская лихорадка в свете концепции паразитоценологии. Новый тип очага в системе природной очаговости / Е.В. Алексеев, А.И. Дулицкий // Сборник научных работ Луганского нац. аграрного ун-та. – Луганск. – 2003. – № 31/43. – С. 39–45.
9. Гришанков Г.Е. Географические закономерности распространения природных очагов туляремии в СССР / Г.Е.Гришанков, Е.В. Алексеев // Природные очаги чумы и других зоонозов. – Саратов. – 1984. – С. 24-31.
10. Дубровский Ю.А. Песчанки и природная очаговость кожного лейшманиоза // М., 1978 – 184 с.
11. Ротшильд Е.В. Пространственная структура природного очага чумы и методы его изучения. – М., Изд-во МГУ. – 1978 – 192 с.
12. Русев И. Т. Механизмы вероятной активизации реликтовых очагов чумы на территории Северо-Западного Причерноморья в XVIII- XX веках / И.Т.Русев // Труды Института биологии Монгольской академии наук. – Улан-Батор, 2011. – № 22 – С. 155–167.
13. Русев И.Т., Биоценологические особенности природных очагов туляремии степной зоны Украины / И.Т. Русев, Л.Я.Могилевский, Ю.А.Бощенко, В.Н. Закусило // Вісник СумДУ, – №7 (79). – 2005. – С.25–35.
14. Русев И.Т. Природа одесской чумы. Экологические факторы и механизмы активизации природных очагов чумы в Северо-Западном Пичерноморье. – Одесса – ВМВ, 2012 – 400 с.
15. Гришанков Г.Е. Ландшафтные уровни материков и географическая зональность / Г.Е. Гришанков // Изв. АН СССР, – сер. геогр. 1972. – № 4 – С. 5–18.
16. Гришанков Г.Е. Проблема целостности в ландшафтоведении / Г.Е. Гришанков // Научн. зап. Воронежского отд. Географического об-ва СССР. – 1974. – С. 10–24.
17. Кучерук В.В. Структура, таксономия и районирование природных очагов болезней человека / В.В. Кучерук // Итоги развития учения о природных очаговых болезнях человека и дальнейшие задачи // М., Медицина. – 1972. – С. 180 –201.
18. Коренберг Э.И. Методологические и общебиологические аспекты развития учения о природной очаговости болезней / Э.И. Коренберг // Вопросы природной очаговости болезней. – Изд-во «Наука». – Алма-Ата. – 1986. –Вып.14. – С.12–24.
19. Афанасьев В.А. О механистических концепциях в понимании целостности живого /В.А.Афанасьев // Проблема целостности в современной биологии. – М., Наука. – 1968 – С. 363 –382.
20. Блауберг И.В. Системный подход как современное научное направление // Диалектика и системный анализ / И.В.Блауберг, Б.Г. Юдин// М., Наука. –1986 – С. 136–144.
21. Ретеюм А.Ю. Земные миры. – М. - Мысль. – 1988. – 268 с.
22. Супотницкий М. В. Очерки истории чумы / М.В.Супотницкий, Н.С. Супотницкая . – 2–х кн. – кн. I : 468 с.; ил.; кн. II : 696 с.; ил.; М. – 2006.

23. Гришанков Г.Е. Компоненты ландшафта и ландшафтообразующие факторы / Г.Е. Гришанков, Ф.Н.Мильков // Изв. ВГО. Т. 119. – вып. М., 1987. – С. 511–517.
24. Солнцев В.Н. Системная организация ландшафтов. – М., Мысль. 1981 – 239 с.
25. Солдаткин И.С. Эпизоотический процесс в природных очагах чумы (ревизия концепции) / И.С.Солдаткин, Ю.В. Руденчик // Вопросы паразитол. и неспецифической профилактики зоонозов. – Саратов. – 1988 – С. 83–134.
26. Солдаткин И.С. Неожиданные загадки энзоотии чумы / И.С.Солдаткин, Ю.В. Руденчик // Занимат. очерки о деятельности и деятелях противочумной системы России и СССР. – М., Информатика. 1995 – С. 28– 85.
27. Арманд Д.Л. Наука о ландшафте (Основы теории и логико-математические методы). – М. Мысль, 1975. – 287 с.
28. Григорьев А.А. Типы географических сред. – М., 1970. – 468 с.

Русев І.Т. Природні осередки інфекцій: структура, розмірність, ієрархія, таксономія / І.Т. Русев, Є.В. Алексєєв // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 168-177.

На даний час однією з складних проблем в питаннях природно-осередкових хвороб являється питання про структуру і розмірності різних просторових одиниць осередкової території і принципи її таксономії. Більшість ензоотичних територій і межі, що їх розділяють, визначаються з відомою часткою умовності. Критеріїв, що дозволяють чітко відокремити осередкову територію від іншої природно-територіальної системи не так уже й багато і часто вони носять не стільки конкретний еколого-географічний, скільки чисто абстрактний характер. Використовуючи системну парадигму, яка обумовлює широке застосування категорій «ціле» – «частина» пропонується використовувати системний підхід як методологічну основу при вивченні природного феномену – хвороб з природною осередковістю. Методологія системної оцінки і моніторингу природних осередків інфекції має бути заснована на ієрархії їх просторової, часової і біоценотичної організації.

Ключові слова: природний осередок інфекцій, чума, туляремія, районування осередкових територій.

Rusev I.T. Natural foci of infections : structure, dimension, hierarchy, taxonomy / I.T. Rusev, E.V. Alekseev // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 168-177.

Presently one of thorny problems in the questions of natural foci illnesses is a question about a structure and dimension of different spatial units of such territory and principles of her taxonomy. Most enzootic territories and border their dividing, determined with the known stake of convention. Criteria, allowing clearly to limit territory with natural foci from other naturally-territorial difference, not too much, and frequently they carry not so much concrete ecological-geografical aspect, as how many cleanly speculative character. Using a system paradigm which stipulates the wide use of categories "unit" - "part" it is expedient to use approach of the systems as methodological basis at the study of the natural phenomenon - illnesses with natural foci. Methodology of system estimation and monitoring of natural foci of infection must be based on the hierarchy of their spatial, temporal and biocenotic organization.

Keywords: natural foci of infections, plague, tularemia, districting of foci territories.

Поступила в редакцію 26.05.2013 г.

УДК 612.014.42./019:591.112.1:599.323.4

УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В ИЗМЕНЕНИИ НОЦИЦЕПЦИИ МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ЭКРАНИРОВАНИИ

Темурьянц Н.А., Костюк А.С., Туманянц К.Н.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: alexkostyuk@mail.ru*

Многодневное электромагнитное экранирование вызывает трехфазные изменения ноцицепции у мышей: начальная фаза гипералгезии сменяется антиноцицептивным эффектом с дальнейшей нормализацией параметров ноцицепции. Ежедневное введение животным мелатонина нивелирует экранообусловленную гипералгезию, вызывает более ранний и более выраженный антиноцицептивный эффект. Такие изменения связаны, по-видимому, с начальным угнетением электромагнитным экранированием секреции мелатонина, что обуславливает развитие гипералгезии. В дальнейшем секреция мелатонина возрастает, что проявляется в росте антиноцицептивного эффекта.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, мелатонин, ноцицепция, мыши.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой современной экологической физиологии является исследование эффектов электромагнитных излучений (ЭМИ) искусственного и естественного происхождения. Получены убедительные доказательства того, что ЭМИ любой области спектра играют определенную роль в эволюции биосферы и обязательно принимают участие в процессах жизнедеятельности [1-6]. Для развития этих представлений необходимо изучение эффектов электромагнитных факторов при их низких интенсивностях.

В связи с этим важное значение приобретают исследования эффектов ослабленного поля, достигаемого электромагнитным экранированием (ЭМЭ), которое широко распространено в естественных и производственных условиях, однако его феноменология, а также физико-химические и физиологические механизмы действия изучены совершенно не достаточно.

Важная роль в реализации физиологических эффектов факторов электромагнитной природы принадлежит эволюционно древним регулирующим системам, таким как опиоиды и мелатонин, обнаруженным у представителей всех таксономических групп беспозвоночных [7-10].

Оказалось, что электромагнитные факторы модулируют разнообразные физиологические процессы, в регуляции которых принимают участие эти нейрогормоны [11]. К таким процессам относится и ноцицепция.

Роль опиоидов в изменении ноцицепции при длительном ЭМЭ нами исследована ранее [12]. Однако участие мелатонина в ее изменениях при этом

воздействии не изучена. В связи с изложенным целью исследования явилось изучение роли мелатонина в изменениях ноцицепции при длительном ЭМЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения цели исследования проведены эксперименты на лабораторных беспородных мышах. Все процедуры на животных проводили в соответствии с Европейской Конвенцией [13] под контролем комиссии по биоэтике Таврического национального университета имени В.И. Вернадского.

В экспериментах использовались половозрелые лабораторные мыши-самцы весом 10 ± 2 г, полученные из питомника Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского.

Ослабление фонового электромагнитного поля (ЭМП) достигалось применением экранирующей камеры размером $2 \times 3 \times 2$ м, изготовленной из двухслойного железа «Динамо». Коэффициент экранирования V_{DC} , измеренный с помощью феррозондового магнитометра, составляет для вертикальной составляющей 4,375, для горизонтальной – 20. Измерялась также спектральная плотность магнитного шума в камере как в области ультранизких (от 2×10^{-4} Гц до 0,2 Гц), так и в области радиочастот (от 15 Гц до 100 кГц). В области сверхнизких частот измерения производились с помощью феррозондового магнитометра в паре со спектроанализатором, в области радиочастот – индукционным методом. Внутри камеры для частот выше 170 Гц и в области частот от 2×10^{-3} до 0,2 Гц уровень спектральной плотности магнитного шума ниже $10 \text{ нТл/Гц}^{0.5}$. Коэффициент экранирования камеры на частотах 50 и 150 Гц порядка трех. В области частот от 150 Гц до 100 кГц происходит слабое экранирование, тогда как на частотах больше 1 МГц имело место полное экранирование.

Таким образом, в нашем исследовании имело место умеренное ослабление как постоянной, так и переменной компонент магнитного поля Земли, в отличие от значительных (100 и более раз) уменьшении таковых, применяемого в подавляющем большинстве исследований [14-16].

В камере соблюдались затемненные условия. Температура в ней во время экспозиции колебалась в пределах 22-23°C.

О состоянии термоноцицептивной чувствительности животных судили по латентному периоду реакции избегания в тесте «горячая пластинка». В экспериментах на мышах использовалась металлическая пластинка, нагреваемая электрическим током до 45°C. Мышь помещали на пластинку и с помощью секундомера регистрировали латентный период – время, через которое появлялись первые болевые реакции (отдергивание и лизание конечностей) [17]. В этом тесте животному предъявляли по три попытки (через три минуты друг за другом), затем вычисляли среднее арифметическое из трех измерений.

Для реализации поставленной цели было проведено по четыре серии экспериментов на мышах. В каждой серии животных делили на две равноценные группы. Животные первой (контрольной) группы находились в стандартных лабораторных условиях. Особей второй группы ежедневно подвергали действию ослабленного магнитного поля (электромагнитного экранирования) по 23 часа в

сутки. Во время экранирования мыши второй группы интактные животные находились в затемненных условиях.

В каждой из описанных групп животные были разделены на три подгруппы: животные первой подгруппы оставались интактными (контроль), животным второй подгруппы вводили мелатонин (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA): – внутривенно в дозе 3 мг/кг, мышам третьей подгруппы вводился эквивалентный объем физиологического раствора. Каждая подгруппа состояла из 10 мышей.

Животных второй и третьей подгрупп извлекали из камеры на один час с 10⁰⁰ до 11⁰⁰ ч. для измерения параметров ноцицепции, уборки клеток. Таким образом, животные находились в условиях свет : темнота 1:23 ч.

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

Действие ЭМЭ на параметры термоноцицепции оценивалось по коэффициенту его эффективности (КЭ) [18]:

$$KЭ_{эмэ} = \frac{(ЛП_{эмэ} - ЛП_{к}) \pm (\sigma_{эмэ} + \sigma_{к})}{(ЛП_{к} \pm \sigma_{к})} \cdot 100\%$$

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

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

Влияние мелатонина на параметры ноцицепции животных оценивалось по коэффициенту его эффективности (КЭ_{мт}):

$$KЭ_{мт} = \frac{(ЛП(эмэ + мт) - ЛП(эмэ + фр)) \pm (\delta(эмэ + мт) + \delta(эмэ + фр))}{(ЛП(эмэ + фр) \pm \delta(эмэ + фр))} \cdot 100\%$$

где КЭ_{мт} – коэффициент эффективности мелатонина, ЛП_{эмэ+мт} – значение латентного периода у животных, подвергнутых влиянию ЭМЭ и введению мелатонина, ЛП_{эмэ+фр} – значение латентного периода у животных, подвергнутых влиянию ЭМЭ на фоне введения физиологического раствора, $\delta_{эмэ+мт}$ и $\delta_{эмэ+фр}$ – среднеквадратические отклонения измерений в соответствующих группах.

Отрицательные значения этого коэффициента свидетельствуют об ингибировании активности мелатонина, а положительные – об его активации.

Статистическую обработку и анализ материала проводили с помощью параметрических статистических методов, возможность применения которых была показана проверкой полученных данных на закон нормального распределения. Вычисляли средние значения исследуемых величин и ошибку средних. Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали *t*-критерий Стьюдента. Оценивалась достоверность различий показателей термоноцицептивной чувствительности между группами (p_1), а также между исходными значениями и данными, полученными каждый день эксперимента в пределах групп (p_2). Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с применением программы «Microsoft Excel» и программного пакета «STATISTICA – 6.0» [19,20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

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

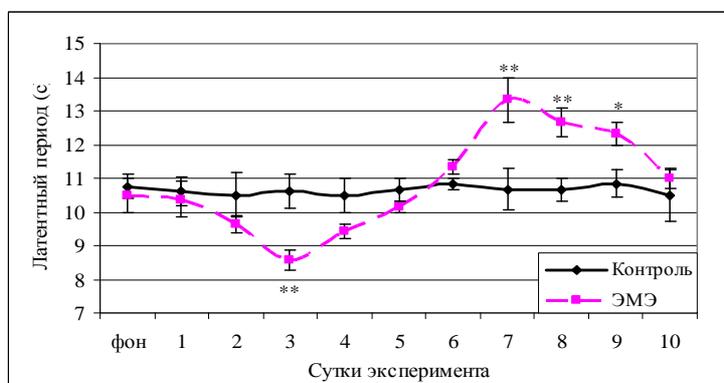


Рис. 1. Динамика ($\bar{x} \pm S \bar{x}$) латентного периода (с) интактной группы мышей и животных, находившихся в условиях электромагнитного экранирования.

Примечание: * – различия достоверны между группами: * – ($p < 0,05$), ** – ($p < 0,01$).

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

Фазные изменения термоноцицептивной чувствительности обнаружены при пребывании животных в μ -боксе, ослабляющем переменное магнитное поле (ПеМП) частотой 0-100 Гц в 125 раз, а постоянное – до 1 мТл [21].

Del Seppia et al. (2000) [22] показали, что значительное ЭМЭ снижает стрессиндуцированную анальгезию, а E. Choleris et al. (2002) [23] изучили зависимость изменений ноцицепции от степени ослабления геомагнитного поля.

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

Если введение физиологического раствора интактным мышам не вызывает изменений параметров ноцицепции, то при введении мелатонина регистрируется некоторое повышение латентного периода реакции избегания термического стимула, что совпадает с данными о том, что экзогенный мелатонин вызывает антиноцицептивное действие [24].

Введение мелатонина мышам, находящимся в условиях экранирования, приводит к модификации экраноиндуцированных изменений ноцицепции. Эта модификация заключается в нивелировании гипералгетической фазы, о чем свидетельствуют низкие значения КЭмэ+мт, зарегистрированные у мышей в течение первых четырех дней (рис. 2, А).

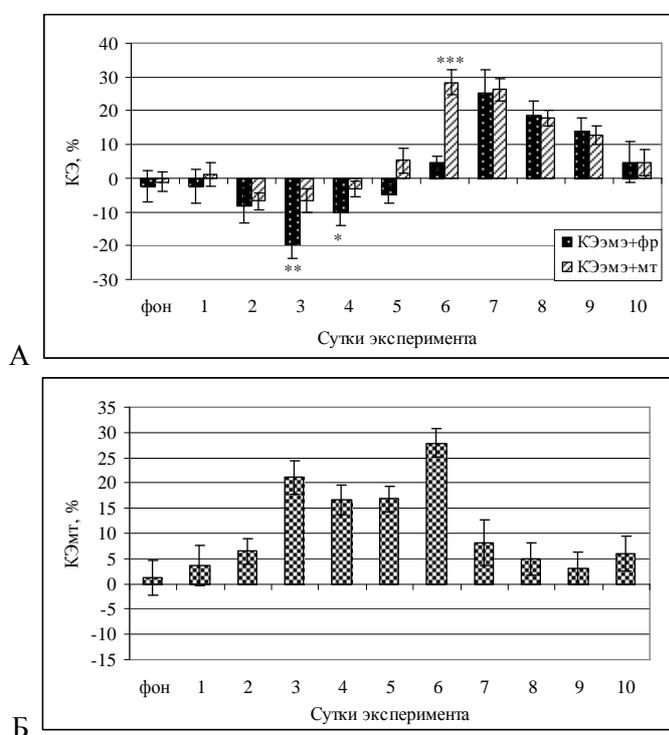


Рис. 2. Динамика ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) коэффициентов эффективности (%) электромагнитного экранирования (А) у мышей при ежедневном введении мелатонина (КЭмэ+мт) и физиологического раствора (КЭмэ+фр) и коэффициента эффективности (%) мелатонина (КЭ_{мт}) у мышей (Б).

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

Антиноцицептивная фаза при введении мелатонина развивалась раньше, она была более выражена и продолжительна, чем при введении физиологического раствора (рис. 2, А).

Таким образом, мелатонин значительно модифицирует изменения ноцицепции мышей при ЭМЭ. Эта модификация заключается в нивелировании гипералгетического эффекта и возрастании антиноцицептивного. Такие изменения, по-видимому, обусловлены фазными изменениями активности мелатонина под влиянием электромагнитного фактора. Близкие к нулю значения КЭмт (рис. 2, Б), обнаруженные у мышей в первый период воздействия ЭМЭ, могут быть связаны со снижением синтеза мелатонина. В последующие сроки его активность прогрессивно нарастает, что и обуславливает сначала нивелирование гипералгетического эффекта экранирования. В более поздние сроки усиление антиноцицептивного эффекта, по-видимому, обусловлено увеличением секреции мелатонина. Третья фаза – новое снижение эффективности мелатонина, вероятно, связана с новым снижением его секреции.

Такая динамика соответствует мелатониновой теории действия электромагнитных факторов, разработанной в экспериментах на позвоночных и наблюдениях на человеке.

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что ЭМП различных параметров вызывают принципиально одинаковые изменения – нивелирование ночного накопления мелатонина в эпифизе – основном месте его синтеза [25, 26]. Угнетение секреции мелатонина сопровождается снижением активности ферментов, катализирующих его биосинтез (серотонин-N-ацетилтрансферазы и гидроксииндол-O-метилтрансферазы) [27], а также увеличением в ночное время концентрации серотонина. О снижении секреции мелатонина под влиянием ЭМП свидетельствуют также данные об уменьшении его концентрации в сыворотке крови [28-30] и экскреции с мочой и со слюной его метаболитов [31-33].

Однако показано, что ПемП оказывает действие и на эпифизэктомированных животных [34]. По-видимому, возможность такого действия обусловлена изменением секреции мелатонина в компонентах APUD-системы, в которых у человека вырабатывается около 20% мелатонина [35]. Показано, что функциональная активность различных элементов APUD-системы меняется при действии низкоинтенсивных ЭМИ. Так, обнаружено, изменение дегрануляции тучных клеток при действии ЭМП различных параметров [36, 37], снижение на 22% активности гидроксииндол-O-метилтрансферазы в сетчатке перепелов [38] и изолированной сетчатке цыплят [39] при действии ослабленного на 50% кольцами Гельмгольца геомагнитного поля.

Так как различные элементы APUD-системы оказываются чувствительными к действию электромагнитных факторов, справедливо заключение о том, что APUD-система, включая эпифиз, участвует в реализации магнитобиологических воздействий [36]. Выделяющийся из апудоцитов мелатонин действует паракринным путем, возбуждая нервные терминалы.

Кроме того, мелатонин может поступать в циркуляцию, следствием чего является увеличение его концентрации в сыворотке крови на последующих стадиях

действия электромагнитных факторов. Так, Е.Н. Чуян (2004) [40] обнаружено увеличение содержания мелатонина в крови интактных животных на 36%, а у крыс с ограниченной подвижностью на 145% на девятые сутки воздействия ЭМИ крайне высокой частоты.

Циркулирующий мелатонин реализует свое действие через МТ1 и МТ2 рецепторы, которые локализованы на мембранах клеток практически всех органов и тканей [41], благодаря чему он играет важную роль как межклеточный нейроэндокринный регулятор и участвует в регуляции разнообразных физиологических эффектов [25, 41-43]. Поэтому изменением его секреции могут быть объяснены многочисленные физиологические эффекты электромагнитных факторов [44], в частности, его антиноцицептивное действие. Это действие реализуется в первую очередь благодаря активации МТ1 и МТ2 рецепторов на спинальном и супраспинальном уровнях [45], а также опосредованно через взаимодействие с бензодиазепиновыми, α 1- и α 2-адренергическими, серотонинергическими, холинергическими и другими рецепторами [45, 46].

Была обнаружена также тесная взаимосвязь между мелатонином и опиоидной системой. Так, мелатонин стимулирует синтез в различных структурах мозга β -эндорфина [47], а введение агонистов опиоидных рецепторов увеличивает уровень мелатонина в эпифизе крыс [48]. Но решающее значение в развитии мелатонининдуцированной анальгезии играет активация им опиоидных рецепторов [24].

Ранее нами было обнаружено [12], что при действии ЭМЭ наблюдаются фазные изменения активности опиоидной системы, определяемые по влиянию налоксона на параметры реакции избегания термического стимула: I фаза – торможение ее активности, в силу чего прогрессирует гипералгезия, далее ее активация (II фаза), результатом чего является полное нивелирование антиноцицептивного эффекта электромагнитного экранирования, III стадия – прогрессирующее уменьшение активности опиоидной системы, в силу чего она редуцирует антиноцицептивный эффект. В этот период антиноцицептивный эффект электромагнитных факторов лишь частично обеспечивается опиоидами. Полученные результаты согласуются также с данными F.S. Prato et al. (2005) [21], которые обнаружили, что выраженность анальгетического эффекта экранирования на пятый сутки эксперимента тождественна таковой, вызванной морфином (5 мг/кг), и эта анальгезия уменьшается, но не исчезает под влиянием налоксона.

Такая динамика активности опиоидной системы соответствует таковой мелатонина.

При начальном угнетении секреции мелатонина электромагнитными факторами снижается активность опиоидной системы, т.к. уменьшается продукция β -эндорфина, чувствительность опиоидных рецепторов, результатом чего является развитие гипералгезии. Дополнительное введение животным мелатонина аннулирует или снижает действие электромагнитного фактора, следствием чего является приближение исследуемых параметров ноцицепции к уровню данных контрольных животных.

Из литературных данных известно, что введение мелатонина при состояниях, сопровождающихся снижением его синтеза, успешно используется для антиноцицепции [45], коррекции десинхронозов [49], а также для угнетения канцерогенеза, неблагоприятных последствий нарушений светового режима [50,51], метеопатических реакций [52] и т.д.

Во II фазе, когда продукция мелатонина усиливается, активируются M1 и M2 рецепторы, а также опиоидная и другие антиноцицептивные системы, что и обуславливает развитие антиноцицептивного эффекта.

Таким образом, в изменении ноцицепции при ЭМЭ важную роль играет мелатонин. Его роль в этих изменениях на различных этапах длительного действия ЭМЭ неодинакова. По-видимому, наиболее важен его вклад в изменении ноцицепции на самых первых этапах действия электромагнитных факторов, обуславливающих снижение его секреции. Очевидно, в реализации соответствующих эффектов участвуют и другие нейрохимические системы, вовлеченные в контроль ноцицепции.

Дальнейшие исследования позволят конкретизировать степень участия каждой из таких систем в модуляции ноцицепции под влиянием электромагнитных факторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Длительное умеренное электромагнитное экранирование вызывает трехфазные изменения ноцицепции у мышей.
2. Дополнительное введение мелатонина мышам значительно модифицирует изменения ноцицепции при экранировании. Эта модификация заключается в нивелировании гипералгетического эффекта и возрастании антиноцицептивного.

Список литературы

1. Александров В.В. Экологическая роль электромагнетизма / В.В. Александров – Спб.: изд-во СПбГПУ, 2010. – 716 с.
2. Бинги В.Н. Магнитобиология: эксперименты и модели / В.Н. Бинги – М.: Милта, 2000. – 592 с.
3. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа / А.С. Пресман – Москва: Наука, 1968. – 288 с.
4. Темуриянц Н.А. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире / Н.А. Темуриянц, Б.М. Владимирский, О.Г. Тишкин – Киев: Наук. думка, 1992. – 188 с.
5. Холодов Ю.А. Организм и магнитные поля / Ю.А. Холодов // Успехи физиол. наук. – 1982. – Т. 13, №2. – С.48–67.
6. Lin James C. Electromagnetic Fields in Biological Systems (Biological Effects of Electromagnetics) / C. James Lin // CRC Press: 2012. - 458 p.
7. Abran D. Melatonin Activity Rhythms in Eyes and Cerebral Ganglia of *Aplysia californica* / D. Abran, M. Anciau, A. Ali // Gen. & Comp. Endocrinol. – 1994. – Vol. 96, Is. 2. – P. 215–222.
8. Hardeland R. Non-vertebrate melatonin / R. Hardeland, B. Poeggeler // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34:C. 233–241.
9. Itoh M. Circadian rhythms of melatonin-synthesizing enzyme activities and melatonin levels in planarians / M. Itoh, T. Shinozawa, Y. Sumi // Brain Research. – 1999. – Vol. 830, Is. 1. – P. 165–173.
10. Photoperiodic modulation of cephalic melatonin in planarians / M. Morita, F. Hall, J.B. Best [et al.] // J. Exp. Zool. 1987. – Vol. 241. – P. 383–388.

11. Frey A.H. Electromagnetic field interactions with biological systems / A.H. Frey // *FASEB J.* – 1993. – Vol. 7, Is. 2. – P. 272–281.
12. Темурьянц Н.А. Роль опиоидной системы в модуляции термонцицептивной чувствительности моллюсков при действии слабых электромагнитных факторов / Н.А. Темурьянц, А.С. Костюк // *Нейрофизиология.* – 2011. – Т.43, № 5. – С. 432–441.
13. Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях – Страсбург, 18 марта 1986 г., глава III, статья 6.
14. Дубров А.П. Геомагнитное поле и жизнь / Дубров А.П. – Л.: Гидрометеиздат, 1974. – 175 с.
15. Asashima M. Magnetic shielding induces early developmental abnormalities in the newt, *Cynops pyrrhogaster* / M. Asashima, K. Shimada, C.J. Pfeiffer // *Bioelectromagnetics.* – 1991. – Vol. 12, Is. 4. – P.215–224.
16. Mo Wei-Chuan A biological perspective of the hypomagnetic field: from definition towards mechanism / Wei-Chuan Mo, Ying Liu, Rong-Qiao He // *Progress in biochemistry and biophysics.* – 2012. – Vol. 39, Is. 9. – P. 835 – 842.
17. Василенко А.М. Корреляция болевой чувствительности и гуморального иммунного ответа у мышей при термораздвожении / А.М. Василенко, О.Г. Яновский, О.В. Коптелов // *Бюлл. exper. Мед.* – 1995. – № 4. – С. 405-408.
18. Prato F.S. Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia 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.
19. Боровиков В. *Statistica. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд.* / В. Боровиков – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
20. Лапач С.Н. *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel* / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – К.: Модмон, 2000. – 319 с.
21. Daily repeated magnetic field shielding induces analgesia in CD-1 mice / F.S. Prato, J.A. Robertson, D. Desjardins [et al.] // *Bioelectromagnetics.* – 2005. – Vol. 26. – P. 109–117.
22. Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice / C. Del Seppia, P. Luschi, S. Ghione [et al.] // *Life Sci.* – 2000. – Vol. 66, Is.14. – P. 1299–1306.
23. Shielding, but not zeroing of the ambient magnetic field reduces stress-induced analgesia in mice / E. Choleris, Seppia Del, A.W. Thomas [et al.] // *Proceedings. Biological sciences. The Royal Society.* – 2002. – Vol. 269. – P. 193–201.
24. Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia / M.L. Lakin, C.H. Miller, M.L. Stott [et al.] // *Life Sciences.* – 1981. – Vol. 29, Is. 24. – P. 2543-2551.
25. Reiter R.J. Melatonin: clinical relevance / R.J. Reiter // *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* – 2003. – Vol. 17. – P. 276-285.
26. Rosen L.A. A 0,5 G, 60 Hz magnetic field suppresses melatonin production in pinealocytes / L.A. Rosen, I. Barber, B. Lyle Daniel // *Bioelectromagnetics.* – 1998. – Vol. 19, Is. 2. – P. 123–127.
27. Selmaoui B. Sinusoidal 50 Hz magnetic fields depress rat pineal NAT activity and serum melatonin: role of duration and intensity of exposure / B. Selmaoui, Y. Touitou // *Life Sci.* – 1995. – Vol. 57. – P. 1351–1358.
28. Effects of exposure to a circularly polarized 50-Hz magnetic field on plasma and pineal melatonin levels in rats / M. Kato, K. Honma, T. Shigemitsu [et al.] // *Bioelectromagnetics.* – 1993. – Vol. 4, Is. 2. – P. 97–106.
29. Effects of weak alternating magnetic fields on nocturnal melatonin production and mammary carcinogenesis in rats / W. Loscher, U. Wahnschaffe, M. Mevissen [et al.] // *Oncology.* – 1994. – Vol. 51. – P. 288–295.
30. Changes in human plasma melatonin profiles in response to 50 Hz magnetic field exposure / A.W. Wood, S.M. Armstrong, M.L. Sait [et al.] // *J. Pineal Res.* – 1998. – Vol. 25, Is. 2. – P. 116–127.
31. Cellular telephone use and excretion of a urinary melatonin metabolite. Research in Biological effects of electric and magnetic fields from the generation, delivery and use of electricity / J.B. Burch, J.S. Reif, C.A. Pitrat [et al.] // *Abstract book.* – San Diego, CA, Nov, 9-13. – 1997. – P. 52.
32. Nocturnal 6-hydroxymelatonin sulfate excretion in female workers exposed to magnetic fields / J. Juutilainen, R.G. Stevens, L.E. Anderson [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2000. – Vol. 28, Is. 2. – P. 97–104.
33. Pfluger D.H. Effects of exposure to 16.7 Hz magnetic fields on urinary 6-hydroxymelatonin sulfate excretion of Swiss railway workers / D.H. Pfluger, C.E. Minder // *J. Pineal Res.* – 1996. – Vol. 21. – P. 91–100.
34. Темурьянц Н.А. Магниточувствительность эпифиза / Н.А. Темурьянц, А.В. Шехоткин, В.А. Насилевич // *Биофизика.* – 1998. – Т. 43. – № 5. – С. 761–765.

35. Экстрапинеальный мелатонин: место и роль в нейроэндокринной регуляции гомеостаза / И.М. Кветной, Н.Т. Райхлин, В.В. Южаков [и др.] // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. – 1999. – Т. 127, № 4. – С. 364–370.
36. Темурьянц Н.А. Роль некоторых компонентов диффузной нейроэндокринной системы в реализации магнитобиологических воздействий / Н.А. Темурьянц, А.В. Шехоткин, В.С. Мартынюк // Биофизика. – 2001. – Т. 46, вып. 5. – С. 901–904.
37. Gangi S. A Theoretical model based upon mast cells and histamine to explain the recently proclaimed sensitivity to electric and/or magnetic fields in humans / S. Gangi, O. Johansson // Medical Hypothesis. – 2000. – Vol. 54. – P. 663–671.
38. Cremer–Bartels G. Influence of low magnetic–field–strength variations on the retina and pineal gland of quail and humans / G. Cremer–Bartels, K. Krause, H.J. Kuchle // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 1983. – Vol. 220, Is. 5. – P. 248–252.
39. Magnetic field of the earth as additional zeitgeber for endogenous rhythms? / G. Cremer-Bartels, K. Krause, G. Mitoškas [et al.] // Naturwissenschaften. – 1984. – Vol. 71, Is.11. – P. 567–574.
40. Чуян Е.Н. Изменение содержания мелатонина в крови крыс под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты / Е.Н. Чуян // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология. Химия». – 2004. – Т.17 (56), №1. – С. 99–107.
41. Karasek M. Melatonin in humans / M. Karasek, K. Winczyk // J. of Physiology and Pharmacology. – 2006. – Vol. 57, Is. 5. – P. 19–39.
42. Арушанян Э.Б. Модуляторные свойства эпифизарного мелатонина / Э.Б. Арушанян, Л.Г. Арушанян // Проблемы эндокринологии. – 1991. – Т. 37, № 3. – С. 65–68.
43. Мелатонин в норме и патологии / Ф.И. Комаров, С.И. Раппопорт, Н.К. Малиновская [и др.] – М. Медпрактика, 2004. – 308 с.
44. Темурьянц Н.А. Изменение инфранианной ритмики некоторых физиологических процессов, контролируемых эпифизом, у эпифизэктомированных крыс при действии переменного магнитного поля сверхнизкой частоты / Н.А. Темурьянц, А.В. Шехоткин, В.А. Насилевич // Биофизика. – 1998. – Т.43, № 4. – С.594–599.
45. Melatonin in antinociception: its therapeutic applications / V. Srinivasan, E.C. Lauterbach, K.Y. Ho [et al.] // Curr Neuropharmacol. – 2012. – Vol.10, Is. 2. – P. 167–178.
46. Melatonin: a hormone that modulates pain / M. Ambriz–Tututi, Hi Rocha–Gonzalez, S.L. Cruz [et al.] // Life Sci. – 2009. – Vol. 84, Is. 15–16. – P. 489–498.
47. Effect of melatonin on release of endogenous opioid peptides in rat periaqueductal gray / C.X. Yu, G.C. Wu, S.F. Xu [et al.] // Sheng Li Xue Bao. – 2000. – Vol. 52, Is. 3. – P. 207–210.
48. Chuchuen U. The stimulatory effect of mu- and delta-opioid receptors on bovine pinealocyte melatonin synthesis / U. Chuchuen, M. Ebadi, P. Govitrapong // Journal of Pineal Research. – 2004. – Vol. 37, Is.4. – P. 223–229.
49. Samuels C.H. Jet lag and travel fatigue: a comprehensive management plan for sport medicine physicians and high-performance support teams / C.H. Samuels // Clin J. Sport Med. – 2012. – Vol. 22, Is. 3. – P. 268.
50. Световой режим, мелатонин и риск развития рака / В.Н. Анисимов, И.А. Виноградова, А.В. Букалев [и др.] // Вопросы онкологии. – 2006. – Т. 52, №5. – С. 491–498.
51. Анисимов В.Н. Эпифиз, мелатонин, старение / В.Н. Анисимов // Хронобиология и хрономедицина. Руководство. М.: ООО Медицинское информационное агенство. – 2012. – С. 284–332.
52. Эффективность мелаксена как адаптогена для профилактики и лечения метеочувствительности больных артериальной гипертензией и ишемической болезни сердца / Р.М. Заславская, Э.А. Щербань, М.М. Тейбллом [и др.] // Хронобиология и хрономедицина. Руководство. М.: ООО Медицинское информационное агенство. – 2012. – С. 379–387.

Темур'янц Н.А. Участь мелатоніну в зміні ноціцепції мишей при тривалому електромагнітному екрануванні / Н.А. Темур'янц, О.С. Костюк, К.М. Туманянц // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 178-188.

Багатоденне електромагнітне екранування викликає трьохфазні зміни ноціцепції у мишей: початкова фаза гіпералгезії змінюється антиноціцептивним ефектом з подальшою нормалізацією параметрів ноціцепції. Щоденне введення тваринам мелатоніну нівелює екраноіндуковану гіпералгезію, викликає більш ранній і більш виражений антиноціцептивного ефект. Такі зміни пов'язані, мабуть, з початковим пригніченням електромагнітним екрануванням секреції мелатоніну, що обумовлює розвиток гіпералгезії. Надалі секреція мелатоніну зростає, що проявляється у зростанні антиноціцептивного ефекту.

Ключові слова: електромагнітне екранування, мелатонін, ноціцепція, миші.

Temuryants N.A. Melatonin is involved in change of nociception of mice under long-term electromagnetic shielding / N.A. Temuryants, A.S. Kostyuk, K.N. Tumanyants // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 178-188.

Long-term electromagnetic shielding causes three-phase changes in nociception of mice: an initial phase of the antinociceptive effect of hyperalgesia is replaced with a further normalization of the parameters of nociception. Daily injections of melatonin in animals eliminates shielding-induced hyperalgesia causes an earlier and more pronounced antinociceptive effect. Such changes are due, apparently, with the initial depression of melatonin secretion under the influence of the electromagnetic shielding, which leads to the development of hyperalgesia. In the future, the secretion of melatonin increases, that is shown in the growth of antinociceptive effect.

Keywords: electromagnetic shielding, melatonin, nociception, mice.

Поступила в редакцію 16.05.2013 г.

УДК 582.251.62

МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ФІЛОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ *SCENEDESMUS RUBESCENS* (CHLOROPHYTA)

Челебієва Е.С.¹, Скребовська С.В.²

¹Інститут біології південних морів імені О.О. Ковалевського НАН України, Севастополь,
Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка ННЦ "Інститут біології",
Київ, Україна
E-mail: elina.chelebieva@gmail.com

На основі аналізу нуклеотидної послідовності 18S рРНК уточнено таксономічне положення штаму IPPAS D-292, реферованого як *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard. Встановлено, що штам IPPAS D-292 є ідентичним штаму ССАР 232/1 *Scenedesmus rubescens* (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss.

Ключові слова: мікроводорості, Chlorophyta, таксономія, молекулярна філогенія, кетокаротиноїди.

ВСТУП

Зелена мікроскопічна водорість, реферована в колекції Інституту фізіології рослин ім. К. А. Тімірязєва РАН як мутант *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard (штам IPPAS D-292) [1], потрапила в колекцію IPPAS з Інституту ботаніки АН Узбекистану у 1989 році як камчатський штам Б. В Громова (CALU 449), виділений на березі озера в районі термальних джерел в кінці 1960-х років.

У 2007 році штам IPPAS D-292 був переданий до Інституту біології південних морів ім. О. О. Ковалевського НАН України зі збереженою назвою *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard. Штам характеризувався яскраво вираженою здатністю до накопичення кетокаротиноїдів при дефіциті елементів живлення, що безумовно викликало інтерес для порівняльних досліджень вторинного каротиногенезу у мікроводоростей різної систематичної приналежності й екологічної спеціалізації. Однак, при лабораторному культивуванні водорості було виявлено, що морфологічні характеристики досліджуваного штаму суттєво відрізняються від першоопису *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard, наведеному у 1888 році [2], а також від більш пізніх описів О. А. Коршикова [3] та Х. Еттла [4]. Цей факт може пояснюватися тим, що, на думку О. А. Коршикова та Х. Еттла, вид *Chlamydomonas reinhardtii* є збірним, на що вказує висока мінливість розмірів і форм клітин і розташування клітинних органел в культурах різних штамів [3, 4]. Крім того, не можна виключити і технічну помилку персоналу однієї з колекцій при етикетуванні даного штаму.

У зв'язку з вищесказаним, метою даної роботи було уточнення таксономічного положення штаму IPPAS D-292 за допомогою молекулярно-генетичного методу, заснованому на аналізі нуклеотидної послідовності 18S rDNA.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Штам IPPAS D-292 вирощували на 2% агаризованому та рідкому середовищах 3N BBM [5] при освітленості 2 кЛк і температурі 18-20 °С.

Ідентифікацію морфологічним методом проводили на основі оптичної мікроскопії культур, вік яких становив 2 тижні, 1 місяць і більше, 6 місяців і більше та 12 місяців. Спостереження проводили на оптичному мікроскопі серії Primo Star (Carl Zeiss, Німеччина). Мікрофотографії виконували на цьому ж мікроскопі за допомогою цифрової камери (DCM 520), з'єднаної з ПК. Всі спостереження проводили з обов'язковим використанням імерсійних об'єктивів (100^x).

Для з'ясування місця штаму IPPAS D-292 в системі зелених водоростей була використана нуклеотидна послідовність ядерного гену 18S rDNA. Тотальну ДНК виділяли у відповідності до протоколу ізоляції ДНК із рослин (DNA Microprep Isolation from Plants, <http://www.scienceboard.net>). Ампліфікацію послідовності 18S rDNA проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням пари універсальних евкаріотичних праймерів для 18S rDNA: прямого праймера (1-F) та оберненого – (1528-R) (табл.1).

Таблиця 1
Послідовності праймерів, використаних для ампліфікації та секвенування

Назва праймера	Послідовність
1-F	5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGTA-3'
1528-R	5'-CTTCTGCAGGTTACACCTAC-3'
528-F	5'-GCGGTAATTCCAGCTCCAA-3'
1055-R	5'-ACGGCCATGCACCACCACCCA-3'
1055-F	5'-GGTGGTGCATGGCCGTTCTT-3'
536-R	5'-AATTACCGCKGCTGGCA-3'

Об'єм ампліфікаційної суміші становив 50 μ л. Ампліфікацію проводили в термоциклері Techne TC 412.

Встановлювали наступний температурний профіль реакції: 94 °С – 3 хв., (94 °С – 45 с, 54 °С – 1хв, 72 °С – 3 хв.) – 30 циклів, 72 °С – 5 хв., 4 °С – ∞ [6]. Амплікони, отримані в результаті ПЛР, візуалізували методом горизонтального електрофорезу в 1% агарозному гелі в TBE буфері [7].

Секвенування ампліфікованих послідовностей здійснювали з прямими (1-F), (528-F), (1055-F) та оберненими праймерами (1055-R), (536-R), (1528-R) в лабораторії Macrogen Inc. (Нідерланди) (табл.1).

Редагування та складання консенсусної послідовності проводили шляхом візуального зіставлення прямого та зворотного хроматограф сіквенсів за допомогою програм Chromas (version 1.45). Складання матриці та її вирівнювання здійснювали за допомогою редактора BioEdit та програми CLUSTAL W v 1.75 [8].

Послідовність 18S rDNA штаму IPPAS D-292 була додана до матриці послідовностей 18S rDNA вибірки зелених водоростей, депонованих в NCBI

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), схожість яких за результатами BLAST-пошуку з використанням алгоритму megablast становила 99%. Всього матриця складалася з 27 послідовностей видів зелених водоростей. Зовнішню групу представляла послідовність *Chlamydomonas applanata* Pringsheim. Повний перелік таксонів, включених до матриці вирівнювання, представлений в табл. 2.

Таблиця 2
Перелік таксонів включених в матрицю вирівнювання

Таксон (синонім в NCBI*)	Код доступу в NCBI
<i>Scenedesmus rubescens</i> (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss.	X74002.1
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing (<i>Acutodesmus obliquus</i> (Turpin) Hegewald & Hanagata)	FR865737.1
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing (<i>Acutodesmus obliquus</i> (Turpin) Hegewald & Hanagata)	FR865719.1
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing (<i>Acutodesmus obliquus</i> (Turpin) Hegewald & Hanagata)	FR865738.1
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing (<i>Acutodesmus obliquus</i> (Turpin) Hegewald & Hanagata)	FR865731.1
<i>Scenedesmus bajacalifornicus</i> Lewis & Flechtner	HQ246318.1
<i>Scenedesmus incrassatalus</i> Bohlin	FR865722.1
<i>Tetradesmus wisconsinensis</i> Smith	AB037096.1
<i>Scenedesmus pectinatus</i> var. <i>distendus</i> Holtmann	AB037093.1
<i>Scenedesmus pectinatus</i> Meyen	FR865730.1
<i>Pectinodesmus pectinatus</i> (Meyen) Hegewald, Wolf, Keller, Friedl & Krienitz	AB037092.1
<i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerheim) Chodat	AB037088.1
<i>Scenedesmus dissociatus</i> (Verses & Trainor) Hegewald & Hanagata (<i>Dactylococcus dissociatus</i> Verses & Trainor)	AB037084.1
<i>Graesiella emersonii</i> (Shihira & Krauss) Nozaki (<i>Chlorella emersonii</i> Shihira & Krauss)	FR865687.1
<i>Graesiella vacuolata</i> (Shihira & Krauss) Kalina & Puncochárová	FR865685.1
<i>Chlorella emersonii</i> Shihira & R.W.Krauss	FR865657.1
<i>Chlorella emersonii</i> Shihira & R.W.Krauss	FR865661.1
<i>Coelastrella saipanensis</i> Hanagata	AB055800.1
<i>Ettlia texensis</i> (Archibald) Komárek	GU292343.1
<i>Scenedesmus costatus</i> Schmidle	AB037090.1
<i>Coelastropsis costata</i> (Korshikov) Fott & Kalina	AB037083.1
<i>Scenedesmus obtusus</i> Meyen	AB037091.1
<i>Scenedesmus regularis</i> Svirengo	FR865732.1
<i>Enallax acutiformis</i> (Schröder) Hindák	AB037089.1
<i>Coelastrum astroideum</i> var. <i>rugosum</i> (Rich) Sodomková	GQ375093.1
<i>Chlamydomonas applanata</i> Pringsheim	FR865570.1

(* в дужках наведена назва таксону, під якою послідовність депонована в NCBI у випадку розбіжностей назв).

Отримана послідовність гену 18S rDNA штаму IPPAS D-292 загальною довжиною 1713 п.н., підготовлена до депонування в базу даних в GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Філогенетичні дерева будували за методом максимальної правдоподібності (Maximal Likelihood, ML), методом найближчих сусідів (Neighborhood – Joining, NJ), та методом максимальної парсимонії (Maximum Parsimony, MP) у філогенетичній програмі PHYLIP 3.69 [9]. Статистичну підтримку філогенетичних дерев в NJ и MP аналізах оцінювали методом бутстрепа, використовуючи 100 бутстреп-реплік [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Морфологічний аналіз штаму IPPAS D-292 показав, що морфотип останнього не відповідає морфотипу *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard, наведеному у літературі [2, 3, 4]. Особливістю культури *C. reinhardtii* є монадний морфотип та складний життєвий цикл. Молоді клітини *C. reinhardtii* злегка яйцевидні, вегетативні клітини мають сферичну форму, з тонкою оболонкою, без носика, піреноїд лежить майже у центрі хроматофору, дві пульсуючі вакуолі, ядро над піреноїдом, півкуляста стигма знаходиться в передній третині клітини, джгутики в 1,5 рази довші від клітини, розмір вегетативних клітин 14-22 мкм, гамет – 8-12 мкм [3]. Проте при лабораторному культивуванні штаму IPPAS D-292 на різних живильних середовищах протягом декілька років його культури складались тільки з нерухомих кокоїдних клітин. Вегетативні клітини сферичної форми, діаметром 10-18 мкм, молоді еліпсоїдні – 5-8 мкм (рис.1).

Клітинні стінки гладкі, в основному двошарові. На полюсах клітинна оболонка має потовщення. Хлоропласт один, розсічений на лопасті, піреноїд знаходиться у боковому (латеральному) потовщенні хлоропласту. Розмноження шляхом утворення автоспор, 2-4-8 клітини в спорангії, що випускаються після розриву материнської клітинної стінки. Джгутикових стадій і статевого розмноження не спостерігалось. На агаризованих поживних середовищах клітини утворюють темно-зелені колонії, старіючі культури помаранчевого чи цегляно-червоного кольору, що свідчить про накопичення каротиноїдів.

Молекулярно-філогенетичний аналіз.

Пошук в GenBank послідовностей, подібних до отриманої нами послідовності 18S rDNA, проведений з використанням megablast алгоритму, показав, що сіквенс IPPAS D-292 на 100% співпадає з секвенованим штамом CCAP 232/1 *Scenedesmus rubescens* (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss [11].

Крім того, отримана послідовність 18S rDNA штаму IPPAS D-292 була схожа на 99.0-99.9% з 25 послідовностями зелених водоростей, що представляють різні молекулярні клади родини Scenedesmaceae. Найвищою після штаму *Scenedesmus rubescens* (CCAP 232/1) на 99.90% є схожість з не ідентифікованим до виду штамом Tow 9/21 P-1w, наведеним як Scenedesmaceae sp. (код доступу AY197641.1).

На третьому місці (99.80%) розташовується штам UTEX 1537, наведений як *Dactylococcus dissociates* Verses & Trainor (код доступу AB037084.1). У літературі для виду *Dactylococcus dissociatus* наводиться інші синонімічні назви *Scenedesmus dissociates* (Verses & Trainor) Hegewald & Hanagata [12] та *Keratococcus dissociates*

(Verses & Trainor) Ettl & Gärtner. Вид потрапляє у кладу *Acutodesmus* в сучасній інтерпретації зарубіжних авторів [13].



Рис. 1. *Scenedesmus rubescens* (штам IPPAS D-292) на рідкому (фото 1-3) та на агаризованому (фото 4) середовищі середовищі 3NBVM (1 – вегетативні клітини, оболонки материнських клітин після звільнення апланоспор, вік 2 тижні, 2-3 – вегетативні клітини, вік 1 місяць, 4 – апланоспори, вік 12 місяців). Шкала 10мкм.

Філогенетичні дерева були побудовані NJ, MP та ML-методами для матриці, що включала штам IPPAS D-292. Клади, для яких бутстреп-підтримка була помірною та високою, позначені на філогенетичному дереві, побудованому ML-методами (рис 2). На всіх варіантах філогенетичних дерев штам IPPAS D-292 потрапляв в надкладу, що відповідає родині *Scenedesmaceae*, а в її межах – у кладу, що об'єднала види *Scenedesmus rubescens* та *Dactylococcus dissociatus*.

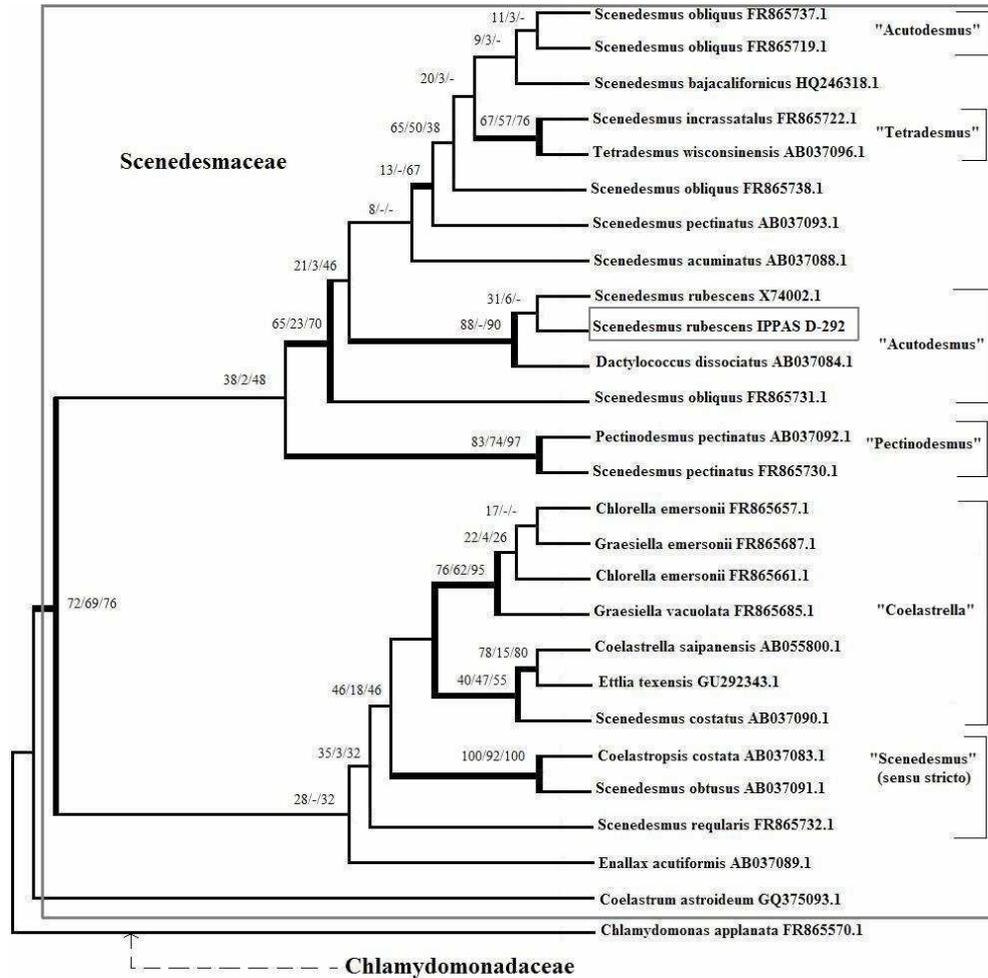


Рис 2. Положення штаму *Scenedesmus rubescens* (IPPAS D-292) в системі Scenedesmaceae за результатами аналізу послідовностей 18S рДНК (філогенетичне дерево, що побудовано за ML- методом; на гілках – значення бутстрепа для ML/MP/NJ дерев. Гілки, які хоча б за одним методом мають підтримку вищу за 50%, виділені товстими лініями).

Scenedesmus rubescens спочатку був описаний як *Halochlorella rubescens* Dangeard у 1966 році та пізніше перейменований у *Chlorella fusca* var. *rubescens* Dangeard, Kessler, Czygan, Fott and Nováková, приймаючи за діаκριтичні ознаки здатність автоспор затримуватися у спорангії і утворювати сарциноїдні пакети, накопичення каротиноїдів у старих культурах [14].

У 1975 році ряд авторів дає іншу синонімічну назву виду – *Chlorella emersonii* var. *rubescens* (Dangeard) Fott, Lohead, Clemenson. Однак, Т. Калина та М. Пунхочарова у 1987 році виявили ребра в клітинній оболонці *Chlorella fusca* var.

rubescens та знов перенесли вид у рід *Halochlorella* [14], котрий розмістили в під родині Scotiellocoystoideae Fott, для якої ця ознака є типовою [15]. У 1997 році Kessler разом з рядом авторів перенесли вид до роду *Scenedesmus* на підставі філогенетичного аналізу, який показав монофілетичність *Chlorella fusca* var. *rubescens* з *Scenedesmus obliquus* та *S. bacillaris* [11].

Отже, за комплексом фенотипних ознак штам IPPAS D-292 показав повну морфологічну відповідність виду *Scenedesmus rubescens* (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss. Результати молекулярно-філогенетичного аналізу узгоджуються з висновками, що отримані на основі морфологічних спостережень. За нуклеотидною послідовністю ядерного гену 18S rDNA встановлено положення штаму в межах родини Scenedesmaceae, класи «Acutodesmus».

ВИСНОВКИ

1. Морфологічний аналіз штаму IPPAS D-292 показав його повну відповідність штаму *Scenedesmus rubescens* (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss.
2. Результати молекулярно-філогенетичного аналізу послідовності ядерного гену 18S rDNA показали на положення *Scenedesmus rubescens* IPPAS D-292 в межах родини Scenedesmaceae, класи «Acutodesmus».

ПОДЯКИ

Автори щиро вдячні завідувачу відділом внутрішньоклітинної регуляції та біотехнології фотоавтотрофних біосинтезів Інституту фізіології рослин ім. К.А. Тімірязєва РАН д.б.н., проф. Д.А. Лосю за надання штаму IPPAS D-292, а також завідувачу кафедри ботаніки Київського національного університету імені Тараса Шевченка д.б.н., проф. І.Ю. Костікову за поради та рекомендації при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Kohan D.E. Biology of endothelin receptors in the collecting duct / D.E. Kohan // *Kidney International*. – 2009. – Vol. 76. – P.481–486.
2. Семенов В. С. Каталог культур сред микроводорослей в коллекциях СССР // 1991.- Москва: ИФР РАН. – С. 226.
3. Dangeard P.A. Recherches sur les algues inférieures / P.A. Dangeard // *Annales des sciences naturelles*. – 1888. – Bot. série.7. – P. 105-175.
4. Коршіков О.А. Volvocineae / О.А. Коршіков // *Визначник прісноводних водоростей УРСР*.- 1938. - Вип. 5. – К.: Вид-во АН УРСР. – 184 с.
5. Ettl, H. Beitrag zur Kenntnis der Morphologie der Gattung Chlamydomonas Ehrenberg. / H. Ettl. // *Archiv für Protistenkunde*. – 1965. – Vol. 108.-P. 271-420.
6. Bishoff H.W. Phycological Studies. IV. Some algae from enchanted rock and related algae species/ H.W. Bishoff., H.C. Bold // *Univ. Texas Publ.* – 1963. – № 6318. – P. 1-95.
7. White T.J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / T.J. White, T. Bruns, S. Lee, [et al.] // *PCR protocols: a guide to methods and applications* / Eds Innis M.A., Geifand D.H., Snisky J.J., White T.J. San Diego (CA), 1990. P. 315–322.
8. Brody, J.R. History and principles of conductive media for standard DNA electrophoresis / J.R. Brody, S.E. Kern. // *Anal Biochem*. 2004. № 333(1). P. 1-13.

9. Thompson J. Clustal w: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice/ J. Thompson, D. Higgins, T. Gibson // Nucleic Acids Research. – 1994. – Vol. 22. – P. 4673-4680.
10. Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach / J. Felsenstein // Mol Evol. – 1981. – Vol. 17. – P. 368–376.
11. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap / J. Felsenstein // Evolution. – 1985. – Vol. 39. – P. 783-791.
12. Kessler E. Physiological, biochemical, and molecular characters for the taxonomy of the subgenera of *Scenedesmus* (Chlorococcales, Chlorophyta) / E. Kessler, M. Schafer, C. Hummer [et al.] // Botanica Acta. – 1997. – Vol. 110. – P. 244-250.
13. Hegewald E. ITS2 sequence-structure phylogeny in the Scenedesmaceae with special reference to *Coelastrum* (Chlorophyta, Chlorophyceae), including the new genera *Comasiella* and *Pectinodesmus* / E. Hegewald, M. Wolf, A. Keller [et al.] // Phycologia. – 2010. – Vol. 49, N4. – P. 325-335.
14. Eliás M. *Hylodesmus singaporensis* gen. et sp. nov., a new asexual subaerial green alga (Scenedesmaceae, Chlorophyta) from Singapore/ M. Eliás, Y. Nemcova, P. Skaloud [et al.] // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2010. – Vol. 60. – P. 1-12.
15. Kerfinand W. Physiological and biochemical contribution to the taxonomy of the genus *Chlorella* / W. Kerfinand, E. Kessler // Arch. Microbiol. – 1978. – Vol. 116. – P. 97-103.
16. Kalina T. Taxonomy of the subfamily Scotiellocoystoideae Fott 1976 (Chlorellaceae, Chlorophyceae)/ T. Kalina, M. Puncochárová // Arch. Hydrobiol. Suppl. – 1987. – Vol. 73, №4 (Algological Studies, 45). – P. 473-521/

Челебієва Э.С. Морфологические и молекулярно-филогенетические исследования *Scenedesmus rubescens* (Chlorophyta) / Э.С. Челебієва, С.В. Скребовская // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С.189-196.

На основе анализа нуклеотидной последовательности 18S рРНК уточнено таксономическое положение штамма IPPAS D-292, реферируемого как *Chlamydomonas reinhardtii* Dang. Установлено, что штамм IPPAS D-292 идентичен штамму CCAP 232/1 *Scenedesmus rubescens* (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss.

Ключевые слова: микроводоросли, Chlorophyta, таксономия, молекулярная филогения, кетокаротиноиды.

Chelebieva E.S. *Scenedesmus rubescens* (Chlorophyta) morphological and molecular phylogenetic studies / E.S. Chelebieva, S.V. Skrebovskaya // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 189-196.

Based of the of nucleic sequence analysis 18S rDNA the taxonomic status *Chlamydomonas reinhardtii* Dang (IPPAS D-292) is corrected. It is found that the strain IPPAS D-292 is identical to the strain CCAP 232/1 *Scenedesmus rubescens* (Dangeard) Kessler, Schafer, Hummer, Kloboucek & Huss.

Keywords: microalgae, Chlorophyta, taxonomy, molecular phylogeny, ketocarotenoids.

Поступила в редакцию 15.04.2013 г.

УДК 612.323:616.34/612.015.13

КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ ШЛУНКОВОЇ СЕКРЕЦІЇ ТА КРОВОТОКУ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА У ХРОНІЧНО АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ

Янчук П.І., Штанова Л.Я., Грінченко О.А., Вовкун Т.В., Весельський С.П., Бабан В.М.

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна
E-mail: shtanova@ukr.net*

Представлені результати свідчать про можливість корекції корвітином шлункової секреції та кровотоку в слизовій оболонці шлунка (СОШ) щура, що зазнали змін унаслідок 90-денного навантаження організму щурів 20% розчином етанолу. Після тривалого вживання 20% етанолу у щурів посилювалась шлункова секреція: збільшувався об'єм шлункового соку, загальна продукція білка, хлористоводневої кислоти (ХК) і кислотність шлункового вмісту, а також зменшувався кровотік в СОШ (у половини тварин). Максимум концентрації ХК в шлунковому соку спостерігався всередині періоду алкоголізації. Введення в шлунок корвітину в післяалкогольний період повертало до норми чи істотно зменшувало всі показники шлункової секреції, які змінилися під впливом тривалої алкоголізації, а також відновлювало кровотік в СОШ.

Ключові слова: шлунок, секреція, кровотік, етанол, корвітин

ВСТУП

Вплив алкоголю на печінку і підшлункову залозу веде до більш тяжких наслідків для здоров'я та тривалості життя людей, ніж його дія на шлунок, тому переважна більшість зусиль щодо дослідження впливу хронічної алкоголізації на організм спрямована саме на вивчення зв'язку “алкоголь – печінка” чи “алкоголь – підшлункова залоза”. У ссавців печінку вважають основним органом перетворення етанолу, проте процес окиснення останнього частково може відбуватися і в інших органах, зокрема в шлунку. Оскільки молекула етанолу має малі розміри, то тут вона швидко проникає через біологічні мембрани і залучається до процесів обміну речовин. Перший етап метаболізму етанолу, важливу роль у якому відіграє шлункова алкогольдегідрогеназа, відбувається в слизовій оболонці шлунка (СОШ), тому її вважають метаболічним бар'єром на шляху етанолу і його похідних [1]. Метаболічне перетворення алкоголю в шлунку складає кількісно меншу частку, ніж у печінці, проте цей процес важливий тому, що він впливає на системну доступність алкоголю і призводить до локальної продукції токсичного ацетальдегіду. Як екзогенні, так і ендогенні альдегіди взаємодіють з протеїнами слизової оболонки, утворюючи сполуки, які можуть бути патогенними факторами в алкогольному ушкодженні шлунка [2]. З огляду на це, вживання алкоголю, особливо довготривале, є вагомим фактором ризику виникнення серйозних захворювань

травного каналу: хронічних гастритів, виразок та пухлин орофарінгеальної, езофагеальної та ректальної зон [3]. Незважаючи на постійну зацікавленість з боку клініцистів до захворювань шлунково-кишкового тракту, викликаних хронічним вживанням алкоголю, проблема залишається і понині не вивченою в достатній мірі. У науковій літературі представлені різні, часто суперечливі відомості. Показано, що в шлунку алкоголь впливає на шлункову секрецію, але результати цього впливу залежать від багатьох факторів, таких як умови експерименту, вид піддослідних тварин та концентрація етанолу, а в хронічних дослідках – ще й від тривалості його дії [4]. Проте часто автори одержують протилежні результати, навіть використовуючи однакові концентрації етанолу [5, 6]. Дослідити механізми порушень функціонування органів, викликаних етанолом, дозволяє використання експериментальних моделей алкогольної патології у тварин.

Роботи по вивченню впливу довготривалого введення етанолу в шлунок на стан кровотоку в його слизовій оболонці, на жаль, поодинокі. Зокрема, у ранніх роботах показано, що етанол викликає в шлунку деяке зменшення кровотоку [7,8] і що до патогенезу гастритів і виразки шлунка причетне зменшення кровотоку в підслизовому і слизовому шарах його стінки [9]. Дехто вважає, що саме порушення шлункового кровотоку є основною причиною патологій шлунка, викликаних етанолом, оскільки останній провокує спазм кровоносних судин, позбавляючи glandулярні клітини СОШ необхідних нутрієнтів і кисню, що надходять з кров'ю [10]. Усе це поступово призводить до порушення функцій, або й до загибелі цих клітин [7]. Таким чином, з'ясування впливу довготривалого введення етанолу на кровотік у СОШ є надзвичайно важливим.

Разом з багатьма іншими структурно-функціональними порушеннями алкоголь викликає в СОШ перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) [11]. Тому увага дослідників у нинішній час зосереджена на можливості залучення натуральних антиоксидантів, зокрема флавоноїдів рослин, до профілактики та усунення наслідків алкогольного ураження шлунка. Одним з представників флавоноїдів є кверцетин. Ця сполука діє як прямий антиоксидант, що інактивує реактивні кисневі радикали, виступаючи в ролі хелатора металів [12] та запобігаючи ПОЛ [11]. Окрім цього, кверцетин має виражену судинорозширювальну дію [13], тому може модулювати кровотік.

Метою роботи було вивчити стан секреторної функції шлунка і кровотоку в його слизовій оболонці у щурів при довготривалому введенні 20% етанолу та з'ясувати можливість корекції цих змін корвітином у післяалкогольному періоді.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Алкоголізацію щурів здійснювали заміною питної води на 20% етанол, який тварини вимушені були вживати протягом 90 днів [14]. Щурі контрольної групи пили лише водопровідну воду. Дослідження шлункової секреції проводили в хронічних і гострих експериментах на самках білих щурів масою 220-270 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. В хронічних експериментах на ненаркотизованих щурах методом аспірації шлункового вмісту визначали динаміку його параметрів, порівнюючи дані, одержані в групах контрольних та хронічно алкоголізованих щурів [15]. Згідно методики, в шлунок кожної тварини за

допомогою металевої орогастральної трубки вводили 5 мл фізіологічного розчину підігрітого до 37⁰С, який тут же відбирали назад. Відібраний аспірат переносили в пробірки і визначали в ньому концентрацію хлористоводневої кислоти (ХК) в ммоль/л та загального білка в мкг/мл. Таку процедуру проводили від початку алкоголізації і далі через кожні 30 діб. Після закінчення періоду алкоголізації в гострих дослідах вивчали біохімічні показники шлункового соку, одержаного у щурів з 4-годинним перев'язуванням пілоруса [16]. Досліди розпочинали після добового голодування. В експериментах брали участь ті самі щури, на яких досліджували динаміку змін секреторної функції протягом усього періоду алкоголізації: це три групи тварин, у кожній з яких перебувало по 6 щурів: 1 – норма (вода), 2 – позитивний контроль (20% етанол), 3 – щури, яким по закінченні 90-денного періоду алкоголізації примусово протягом 2-х тижнів у шлунок вводили 0,5 мл/добу водного розчину корвітину (Борщагівський хім.-фарм. завод) в дозі 5 мг/кг. Щурів наркотизували тіопенталом натрію (35 мг/кг, внутрішньоочередово), здійснювали лапаротомію по білій лінії живота, діставали шлунок і лігатурою перев'язували його пілоричну частину. Через 4 год. у тварин видаляли шлунок, а їх вміст збирали в градуйовані пробірки. Для визначення продукції білка (мг/год) від кожної проби відбирали 0,2 мл соку. Даний показник визначали спектрофотометрично за біуретовою реакцією (реактив Бенедикта, р-н альбуміну, що містить 2,0 мг білка в 1 мл; розчини 6% NaOH і 0,01 N NaOH) [17]. Окрім продукції білка у зібраних пробах шлункового соку визначали: загальний об'єм секрету (мл), рН, загальну продукцію ХК (ммоль/год). Для цього їх центрифугували впродовж 10 хв. при 3500 об/хв, супернатант переносили в хімічні стакани, додавали до нього 5 мл дистильованої води. В одержаній надосадовій рідині визначали рН (іономір "рН-150") та загальну продукцію ХК, титруючи її до рН 7,0 розчином NaOH (0,01N).

Кровотік у СОШ щурів реєстрували в умовах гострого експерименту методом кліренсу водню з електрохімічною його генерацією за допомогою модифікованих нами платинових електродів [18]. Після добової харчової депривації тварин наркотизували уретаном (1 г/кг), здійснювали лапаротомію, робили отвір у шлунку, промивали його фізіологічним розчином ($t^{\circ}=37,0\pm 0,5C^{\circ}$) та занурювали в СОШ модифікований електрод. Розрахунок швидкості кровотоку в СОШ (мл/хв*100 г тканини) проводили за кривою падіння в ній напруги водню після припинення його генерації. Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали методами варіаційної статистики з використанням W-тесту Шапіро-Вілка та t-критерію Стьюдента. Відмінності між окремими групами вважали вірогідними при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

З метою з'ясування динаміки змін шлункової секреції при алкоголізації щурів протягом 90 діб, ми через кожні 30 діб визначали біохімічні показники шлункового аспірату. Через малу кількість ХК та білка в аспіраті, порівняно з чистим соком, обмежились лише визначенням їх концентрації. В групі інтактних тварин (контроль) концентрація ХК протягом 90 днів експерименту залишалась без змін. У процесі вживання тваринами 20% етанолу даний показник істотно зріс, причому

максимум приходився не на кінець періоду алкоголізації, а на його середину. Через 30 днів концентрація ХК зросла на 74,7% ($p < 0,05$), через 60 днів – на 154,8% ($p < 0,001$), а через 90 днів – на 129,5% ($p < 0,001$). Якщо порівнювати з показником неалкоголізованої групи за весь період алкоголізації, то концентрація загального білка в шлунку 67 % щурів не змінилась. У 33% тварин кількість білка у першій половині періоду алкоголізації не відрізнялася від контрольних значень, проте через 90 днів вона зросла майже у 5 разів ($p < 0,001$). Після 14-денного лікування корвітином концентрація ХК в аспіраті, порівняно з алкоголізованими тваринами, зменшилась на 40,4% ($p < 0,05$), а концентрація білка – на 88,7% ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблиця 1

Концентрація хлористоводневої кислоти та загального білка в шлунковому аспіраті щурів у різні відрізки часу 90-денного періоду алкоголізації 20% етанолом ($M \pm m$)

Показники	Контроль	Через 30 діб	Через 60 діб	Через 90 діб	20% етанол+ Корвітин
Конц. ХК, ммоль/л	1,7±0,3	2,9±0,3 *	4,2±0,5***	3,8±0,4***	2,3±0,3*
Конц.білка, мкг/мл	22,6±2,8	20,5±3,7	26,8±4,8	111,25±9,8***	12,6±2,1**

В контрольній групі об'єм шлункового соку дорівнював 2,7±0,25 мл; рН – 2,29±0,06; загальна продукція ХК – 50,4±4,0 мкмоль/год, а дебіт білка – 0,13±0,01 мг/год. Після закінчення алкоголізації об'єм шлункового соку становив 4,4±0,5 мл; рН – 2,04±0,06; загальна продукція ХК досягла 89,5±9,6 мкмоль/год; дебіт загального білка – 0,22±0,04 мг/год. Тобто, у порівнянні з контролем 90-денне навантаження організму 20% етанолом викликало збільшення всіх досліджуваних показників: об'єму шлункового соку на 59,5 % ($p < 0,01$); продукції ХК – на 77,8% ($p < 0,001$); загального білка – на 69,2% ($p < 0,01$). Після 14 діб застосування корвітину об'єм шлункового соку дорівнював 2,5±0,59 мл; рН – 2,42±0,13; продукція ХК – 45,2±5,4 мкмоль/год, продукція загального білка – 0,21±0,04 мг/год, що на 42,6% ($p < 0,05$); 18,6% ($p < 0,05$) та 49,6% ($p < 0,01$) відповідно менше, ніж у алкоголізованих тварин. Ці дані свідчать про те, що продукція шлункового соку і ХК після застосування корвітину повернулися до значень контрольної групи, а продукція білка не відрізнялась від такої групи алкоголізованих тварин (рис. 1).

Швидкість кровотоку в СОШ у половини алкоголізованих щурів за 90 днів дії 20% етанолу знизилась порівняно з неалкоголізованими щурами на 50% ($p < 0,05$) – з 62,5±5,3 мл/хв*100г до 31,4±6,7 мл/хв*100 г. У решти тварин кровотік вірогідно не відрізнявся між цими двома групами. Після 14 діб уведення алкоголізованим тваринам корвітину кровотік в СОШ дорівнював 60,3±3,4 мл/100 г*хв, що вірогідно не відрізнялось від контролю (рис. 2).

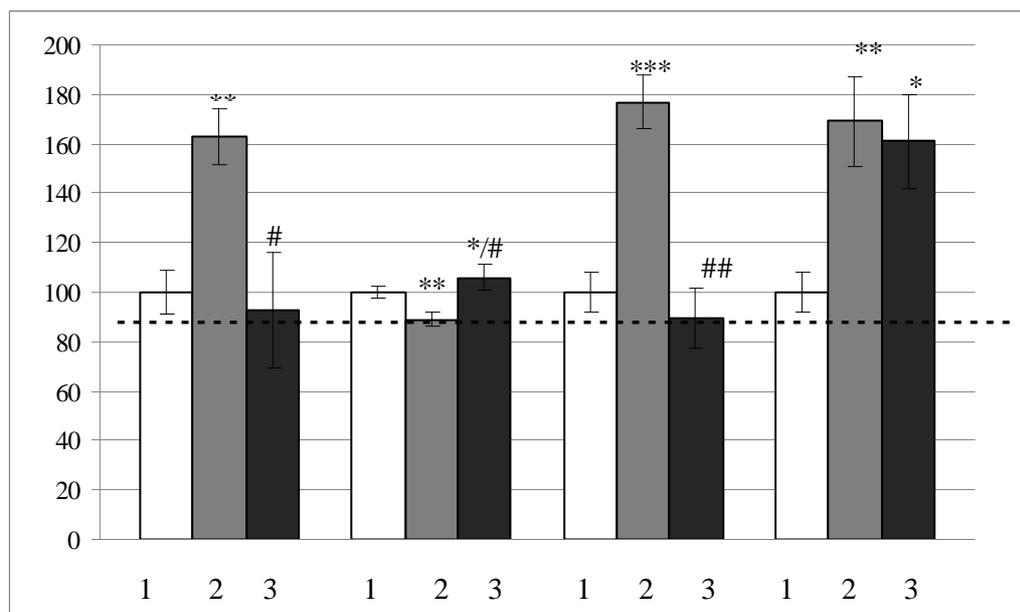


Рис. 1. Зміни параметрів шлункової секреції (відсоток від норми) у неалкоголізованих щурів (1), алкоголізованих щурів (2) та щурів, яким після закінчення алкоголізації протягом 14 діб давали корвітин (3): а – об'єм шлункового соку; б – рН шлункового соку; в – загальна продукція ХК; г – продукція загального білка. Рівень значущості * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з неалкоголізованими тваринами; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ порівняно з алкоголізованими тваринами.

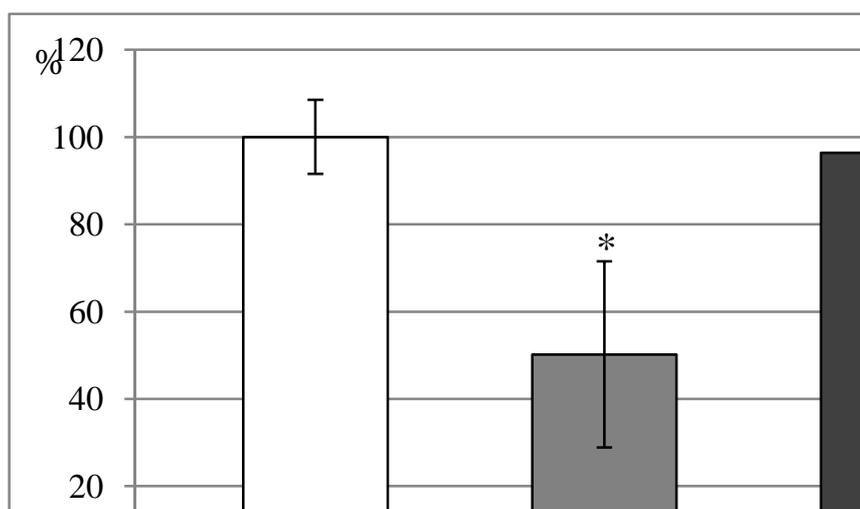


Рис. 2. Зміни кровотоку в слизовій оболонці шлунка щурів, що сталися внаслідок навантаження організму 20% етанолом протягом 90 діб (1) і через 14 діб введення корвітину (2). * – $p < 0,05$ проти неалкоголізованих щурів.

Дані літератури щодо кислосекреторної продуктивності шлунка у хронічних алкоголіків суперечливі. Так, одні автори виявляють гіпосекрецію кислоти або й повну ахлоргідрію в шлунку таких пацієнтів [19], тоді як інші реєструють гіперсекрецію ХК [20]. Дінозо [21] таке варіювання показника пояснює тим, що у обстежених ним хронічних алкоголіків частіше зустрічалися атрофічні і поверхневі гастрити, ніж у людей, що не вживали алкоголю. У 20% людей було виявлено атрофічний гастрит і продукція ХК у них була дуже низька, а при поверхневому гастриті вона мало відрізнялася від норми. Стан СОШ був нормальним лише у 10% алкоголіків, і в них відмічалася надмірна продукція кислоти. Кисла гіперсекреція, подібна до такої у людей-алкоголіків, була виявлена також у хронічно алкоголізованих собак. Це було пов'язано зі збільшенням утричі маси парієтальних клітин, яке супроводжувалось гіпертрофією мітохондрій і збільшенням секреторного тубулярного апарату парієтальних клітин [22]. У хронічно алкоголізованих щурів, порівняно з інтактними, базальна акумуляція C^{14} -амінопірину, який є індикатором секреторної функції парієтальних клітин, була вдвічі вищою [23].

Наші результати свідчать, що 20% етанол при тривалій дії на шлунок посилює шлункову секрецію у всіх без винятку щурів. Концентрація ХК зростала, досягаючи свого піку близько середини періоду алкоголізації. Орієнтуючись на результати досліджень інших авторів [22], можемо припустити, що при тривалій дії етанолу збільшується маса парієтальних клітин та відбуваються структурні зміни всередині клітин, тому ми і спостерігаємо гіперсекрецію ХК. Застосування корвітину повертає об'єм шлункового соку і секрецію ХК до норми. В нашій попередній роботі на щурах ми показали, що в дозі 5 мг/кг корвітин не впливав на показники шлункової секреції, такі як об'єм соку, рН, продукція ХК і загального білка, проте майже вдвічі збільшував об'ємну швидкість кровотоку в СОШ [24]. Відновлення нормального функціонування секреторних залоз шлунка в нашому експерименті, в усякому разі частково, може бути наслідком покращення кровопостачання СОШ під впливом корвітину. Проте зміни кровотоку спостерігалися не в усіх тварин, а лише у 50% випадків, а секреція ХК під дією 20% етанолу зростала в усіх щурів без винятку. Раніше ми також встановили, що корвітин активує в шлунку роботу антиоксидантних систем [24], що може сприяти відновленню порушених функцій СОШ. Відомо, що надмірне вживання алкоголю веде до змін стану судин шлунка та інших органів травної системи, проте його дію на судини поглиблено почали вивчати відносно недавно. Кровотік у СОШ – рух крові по мікросудинах (артеріолах, капілярах і збірних венулах) є важливим у підтриманні структури і функцій органу в межах норми [25]. Мікросудини утворюють в СОШ дуже густу сітку поблизу залозистих клітин [26], тому фактори, які модулюють шлунковий кровотік, будуть опосередковано впливати на функціонування всієї слизової. Ендотеліальні клітини, що вистилають внутрішню поверхню шлункових судин, утворюють бар'єр, що регулює обмін O_2 , CO_2 і нутрієнтів. Вони також задіяні в утворенні та інактивації вазоактивних субстанцій, простаноїдів, гормонів і факторів росту [27]. Ендотеліоцити з L-аргініну синтезують оксид азоту (NO), який регулює кровотік у СОШ, що відіграє важливу роль в її захисті, у тому числі і від ураження

етанолом [2]. Ми спостерігали зменшення кровотоку в алкоголізованих щурів на 50%. За даними дослідників [28] тривала дія етанолу викликає в слизових оболонках органів травної системи збільшення проникності мембран для різних макромолекул, зокрема для ендотоксину чи бактеріальних токсинів, які проникають через судинну стінку в кров і лімфу. Це викликає вивільнення потенційно токсичних цитокінів та інших медіаторів, і вони можуть зумовлювати негативний вплив на судини, порушуючи циркуляцію крові в них. Крім цього, хронічна дія етанолу знижує активність NO-синтази [29] і, отже, пригнічує синтез NO, а це призводить до зменшення кровотоку і посилення ушкодження СОШ [2]. З іншого боку показано, що етанол зумовлює збільшення концентрації судинозвужуючої субстанції – ендотеліну-1 в СОШ, що також вносить свою частку в зменшення інтенсивності в ній кровотоку [8]. Разом з тим, кверцетин може впливати на судини як через посилення продукції NO [29], так і через зменшення утворення ендотеліну-1 в судинній стінці [30].

ВИСНОВКИ

1. 90-добове навантаження організму 20% розчином етанолу зменшує кровотік в слизовій оболонці шлунка лише у половини щурів.
2. Тривале вживання 20% етанолу змінює показники шлункової секреції у всіх тварин без винятку.
3. Максимальна кислотність шлункового соку спостерігається в середині періоду алкоголізації.
4. Після 2-тижневого введення алкоголізованим щурам корвітину продукція шлункового соку, хлористоводневої кислоти, а також кровотік в слизовій оболонці шлунка повертаються до норми.
5. Негативні функціональні зміни в слизовій шлунка, які виникають внаслідок хронічної алкоголізації 20% етанолом, є зворотніми, оскільки корвітин майже повністю їх усуває.

Список літератури

1. Julkunen R.J.K. First-pass metabolism of ethanol: a gastrointestinal barrier against systemic toxicity of ethanol / R.J.K. Julkunen, C. DiPadova, C.S. Lieber // *Life sciences*. – 1985. – Vol. 37. – P. 567–573.
2. Salmela K.S. Binding of acetaldehyde to rat gastric mucosa during ethanol oxidation / K.S. Salmela, P. Sillanaukee, L. Itala, S. Vakevainen, M. Salaspuro, R.P. Roine // *Journ. Labor. Clin. Med.* – 1997. – Vol. 129. – P.633–637.
3. Seitz H.K. Alcohol consumption and cancer of the gastrointestinal tract / H.K. Seitz, B. Maurer, F. Stickel // *Dig. Dis.* – 2005. – Vol. 23. – P. 297–303.
4. Laniewska-Dunai M. The effect of ethanol on the stomach / M. Laniewska-Dunai, W. Jelski, M. Szmitkowski // *Pol. Merkur Lekarski.* – 2012. – Vol. 32. – P. 194–197.
5. Lenz H.Z. Wine and five percent ethanol are potent stimulants of gastric acid secretion in humans / H.Z. Lenz, J. Ferrari-Taylor, J.I. Isenberg // *Gastroenterology.* – 1983. – Vol. 85. – P. 1082–1087.
6. Singer M.V. Action of ethanol and some alcoholic beverages on gastric acid secretion and release of gastrin in humans / M.B. Singer, C. Leffmann, V.E. Eysselein, H. Calden, H. Goebell // *Gastroenterol.* – 1987. – Vol. 93. – P.1247–1254.

7. Guth P.H. Histologic and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rat: effect of prostaglandin cytoprotection / P.H. Guth, G. Paulsen, H. Nagata // *Gastroenterol.* – 1984. – Vol. 87. – P. 1083-1090.
8. Horie Y. Effect of alcohol on organ microcirculation: its relation to hepatic, pancreatic and gastrointestinal diseases due to alcohol / Y. Horie, H. Ishii // *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi.* – 2001. – Vol. 36, №5. – P. 471–85.
9. Pihan G. Vascular injury in acute gastric mucosal damage. Mediatory role of leukotrienes / G. Pihan, C. Rogers, S. Szabo // *Dig. Dis. Sci.* – 1988. – Vol. 33. – P. 625–632.
10. Yonei Y. Ethanol induced gastric injury, role of sub-mucosal vasoconstriction and leukotrienes / Y. Yonei, P.H. Guth // *Dig. Dis. Sci.* – 1991. – Vol. 36. – P. 601–608.
11. Гарник Т.П. Порівняльна характеристика гастропротекторної, антисекреторної і антиоксидантної дії кверцетину, омепразолу та ранітидину / Т.П. Гарник, М.Ю. Макарчук, Н.Ю.Таран, С.П. Весельський, Л.Я. Штанова, Т.М. Говоруха, А.М. Косян, Т.В. Вовкун, В.М. Бабан // *Фітотерапія.* – 2010. – № 4. – С. 47–52.
12. Kahraman A. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions / A. Kahraman, N. Erkasap, T. Koken T., M. Serteser, F. Aktepe, S. Erkasap // *Toxicology.* – 2003. – Vol. 183, № 1-3. – P. 133–42.
13. Schini-Kerth V.B. Nutritional improvement of the endothelial control of vascular tone by polyphenols: role of NO and EDHF / V.B. Schini-Kerth, C. Auger, J.H. Kim, N. Etienne-Selloum, T. Chataigneau // *Pflug. Arch.* – 2010. – Vol. 459, № 6. – P. 853–862.
14. Jalovaara P. Alcohol and acute pancreatitis. An experimental study in the rat / P. Jalovaara, M. Arajala // *Scand. J. Gastroent.* – 1978. – Vol.13. – P.703–709.
15. Campbell C.F. Validation of a conscious rat model for the discovery of novel agents that inhibit gastric acid secretion / C.F. Campbell, P.J. Gaskin, J. Darton, P. Chiu, K. Lee, P.G. McLean // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 589, № 1. – P. 260–263.
16. Shay H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat / H. Shay, S. Komarov, S.S. Fels, D. Meranze, M. Gruenshtein, H. Sipler // *Gastroenterol.* – 1945. – Vol. 5. – P. 43–61.
17. Кочетков Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетков. – М.: Высшая школа, 1980. – 272 с.
18. Янчук П.И. Модифицированный электрод для регистрации локального кровотока в слизистой оболочке желудка методом водородного клиренса / П.И. Янчук, Т.П. Палатный, Я.И. Русинчук // *Рос. Физиол. Журнал.* – 2005. – Т. 91, №9. – С. 1108–1110.
19. Gullo L. Gastric acid secretion in chronic pancreatitis / Gullo L., Corinaldesi L., Cassidio P. // *Hepatogastroenterol.* – 1983. – Vol. 30. – P. 60–62.
20. Piubello W. Gastric secretion, gastroduodenal histological changes, and serum gastrin in chronic alcoholic pancreatitis / W. Piubello, I. Vantini, L.A. Scuro // *Am. J. Gastroenterol.* – 1982. – Vol. 77. – P. 105–110.
21. Dinoso W. Gastric secretion and gastric mucosal morphology in chronic alcoholics / W. Dinoso, W.Y. Chey, S.P. Baverman // *Arch. Intern. Med.* – 1972. – Vol. 130. – P. 715–719.
22. Yoshimori M. Effects of ethanol on gastric secretion of acid and parietal cells in dogs / M. Yoshimori, W. Y. Chey, R. Escoffery, C.D. Lillibridge // *Gastroenterol.* – 1972. – Vol. 52. – P.732.
23. Hernández-Rincón I. Rat gastric mucosa during ethanol-induced gastritis enhanced intracellular calcium promotes metabolic and secretory disturbances / I. Hernández-Rincón, M. Olguín-Martínez, R. Hernández-Munoz // *Exper. Biol. Med.* – 2003. – Vol. 228. – P. 315–324.
24. Вовкун Т.В. Вплив корвітину на секреторну функцію шлунка та кровотік у його слизовій оболонці / Т.В. Вовкун, П.І. Янчук, Л.Я. Штанова, С.П. Весельський, В.А. Барановський // *Фізіол. журн.* – 2013. – Т. 59. – № 1. – С. 40-47.
25. Laine L. Gastric mucosal defence and cytoprotection: bench to bedside / L. Laine, K. Takeuchi, A. Tarnawsky // *Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 135. – P. 41–60.
26. Gannon B. Mucosal microvascular architecture of the fundus and body of the human stomach / B. Gannon, J. Browning, P. O'Brien, P. Rogers // *Gastroenterol.* – 1984. – Vol. 86. – P. 866–875.
27. Pries A.R. Normal endothelium / A.R. Pries, W.M. Kuebler // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 176. – P.1–40.

28. Ge Y.B. Effect of gastric mucosa cell turnover on the adaptive cytoprotection in chronic alcohol drinking rat / Y.B. Ge, J. Du, S.P. Tian, W.X. Li, L. Gu // Zhong. Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. – 2005. – Vol. 21, № 1. – P. 74–78.
29. Liu J.L. Effects of quercetin on hyper-proliferation of gastric mucosal cells in rats treated with chronic oral ethanol through the reactive oxygen species-nitric oxide pathway / J.L. Liu, J. Du, L.L. Fan, X.-Y. Liu, L. Gu, Y.-B. Ge // World J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 14. – P. 3242–3248.
30. Vizcaino P.-V. Flavonols and cardiovascular disease / P.V. Vizcaino, J. Duarte, R. Andriantsitohaina // Mol. Asp. Med. – 2010. – Vol. 31, № 6. – P. 478–494.

Янчук П.И. Коррекция корвитином желудочной секреции и кровотока в слизистой оболочке желудка у хронически алкоголизированных крыс / П.И. Янчук, Л.Я. Штанова, О.А. Гринченко, Т.В. Вовкун, С.П. Весельский, В.Н. Бабан // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 197-205.

Представленные результаты свидетельствуют о возможности коррекции с помощью корвитина желудочной секреции и кровотока в слизистой оболочке желудка (СОЖ) крыс, изменившихся вследствие 90-дневной нагрузки организма крыс 20% раствором этанола. После длительного употребления 20% этанола у крыс усиливалась желудочная секреция: увеличивался объем желудочного сока, общая продукция белка, хлористоводородной кислоты (ХК) и кислотность желудочного содержимого, а также уменьшался кровоток в слизистой оболочке желудка (у половины животных). Максимум концентрации ХК в желудочном содержимом наблюдался в середине периода алкоголизации. Введение в желудок крыс корвитина в послеалкогольный период возвращало к норме показатели желудочной секреции, которые изменились под влиянием длительной алкоголизации, а также восстанавливало кровоток в слизистой оболочке желудка.

Ключевые слова: желудок, секреция, кровоток, этанол, корвитин.

Yanchuk P. Correction by corvitin of gastric secretion and blood flow in the gastric mucosa in rats treated with chronic oral 20% ethanol / P. Yanchuk, L. Shtanova, O. Grinchenko, T. Vovkun, S. Veselsky, V. Baban // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 197-205.

The results presented here indicate the possibility of correction with corvitin gastric secretion and blood flow in the rat gastric mucosa that have changed as a result of the 90-day use of ethanol. After long-term use of 20% ethanol in rats amplified gastric secretion: increases in the volume of gastric juice, total production of the protein, total output of hydrochloric acid (HA), the acidity of gastric contents and decreased blood flow in the gastric mucosa (half animals). The maximum concentration of HA in the gastric contents was observed in the mid-term alcohol abuse. The corvitin solution which was injected into the stomach after the period of alcohol abuse to return to normal or significantly reduced all parameters of gastric secretion, that have changed under the influence of long-term alcohol abuse, and restores blood flow in the gastric mucosa.

Keywords: stomach, secretion, blood flow, ethanol, corvitin.

Поступила в редакцию 25.05.2013 г.

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 26 (65). 2013. № 2. С. 206-210.

УДК 663.253.2: 547.477

ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВИНОГРАДНЫХ СУСЕЛ ПРИ ПОЭТАПНОМ ПРИГОТОВЛЕНИИ РЕЗЕРВУАРНЫХ ЛИКЕРОВ

Бурда В.Е.¹, Панов Д.А.²

¹«Севастопольский винзавод», Севастополь, Украина

*²Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: mendes@inbox.ru*

В работе приведены результаты исследований изменений вязкости, плотности и поверхностного натяжения виноградных сусел сортов Алиготе, Ркацители и смеси столовых сортов винограда в процессе трехступенчатого добавления сахара. Эти величины для полученных резервуарных ликеров влияют на характер «игры» вина и пенообразование.

Ключевые слова: вязкость, поверхностное натяжение, плотность, резервуарный ликер, сахар.

ВВЕДЕНИЕ

Общепринятая мировая практика современного бутылочного и резервуарного производства игристых вин предусматривает использование ликеров, приготовленных путем поэтапного добавления в виноградное сусло сахара. Основными компонентами сахара является глюкоза, фруктоза и сахароза. Сахароза участвует в процессе брожения сусла, в результате которого образуется сусло с иным составом [1–3]. Ранее сообщали об изменении физико-химического состава резервуарных ликеров, приготовленных путем трехступенчатого блочного вымораживания виноградного сусла, и постепенного прибавления сахара к суслу [4, 5].

К основным параметрам характеристики вина относятся пенистые и игристые свойства, которые существенно зависят от плотности, вязкости и поверхностного натяжения продуктов [6]. Изучению этих показателей в игристых винах в настоящее время уделяется мало внимания. Исходя из этого, основной целью данной работы явилось изучение влияния сахара на физико-химические свойства резервуарных ликеров при поэтапном приготовлении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе приведены результаты исследований по изучению изменений плотности, вязкости и поверхностного натяжения виноградных сусел сортов Алиготе, Ркацители и смеси столовых сортов винограда (Мускат Гамбургский,

Мускат Италия), произрастающих в Севастопольской зоне возделывания винограда (АФ «Золотая балка»), в процессе трехступенчатой загрузки сахара. Резервуарный ликёр готовили согласно технологической инструкции и рекомендациям [7]. Каждая ступень приготовления длилась 1 час. Для лучшего и быстрого растворения сахара в винной среде и обескислороживания купажа подогрева виноматериал до 50°C [8]. Подготовительный этап в процессе приготовления ликеров соответствовал содержанию сахаров исходных сусел.

Плотность – очень важный показатель для оценки качества сусла и вина. Роль плотности состоит в использовании ее для объективной характеристики вин и установлении натуральности последних [6]. Плотность сусел измеряли с помощью стеклянных пикнометров (ГОСТ 22524-77) вместимостью 50 см³ с наружным диаметром горловины 6 мм. Расхождение между результатами параллельных измерений массы пикнометра не должно превышать 0,0003 г.

Вязкость имеет большое значение в виноделии, а особенно, в производстве игристых вин, так как во многом обуславливает характер «игры» и пены. От вязкости жидкости зависит величина выделяющихся пузырьков газа и скорость их движения. Вязкость, препятствуя быстрому подъёму пузырьков на поверхность, в какой-то мере способствует увеличению продолжительности существования пены [9, 10]. Вязкость виноградных сусел измеряли вискозиметром Оствальда с диаметром капилляра 0,56 мм, при температуре 21°C, истечение сусла фиксировали с помощью электронного секундомера [11].

Поверхностное натяжение – показатель, оказывающий существенное влияние на игристые и пенистые свойства игристых вин. Устойчивости пены способствует низкое поверхностное натяжение на границе жидкость–газ. Измерение поверхностного натяжения проводили стагагмометрическим методом на стеклянном стагагмометре с диаметром капилляра 0,56 мм [9, 10, 12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении исследований в процессе получения ликера при поэтапном добавлении сахара в виноградное сусло разных сортов были определены на каждом этапе плотность, вязкость и поверхностное натяжение сусел. В таблице приведены результаты проведенных измерений (среднее арифметическое из трех параллельных измерений). Из таблицы видно, что при максимальном добавлении сахара в сусло, независимо от сорта сусла плотность в среднем увеличивается в 1,1–1,4 раза. Этот рост связан с увеличением содержания сахара.

В результате поэтапного приготовления ликеров происходит значительное увеличение показателя вязкости по сравнению с его значениями на подготовительном этапе. Следует отметить, что наименьшее увеличение вязкости наблюдается у сорта Алиготе. Это, вероятно, связано с тем, что у этого сорта меньше содержание сахара, и, соответственно, меньше плотность ликера. При увеличении содержания сахара до 400 г/см³ вязкость сусла сорта Алиготе приближается к вязкости столовых сортов.

Таким образом, можно сделать вывод, что увеличение показателей плотности и вязкости в процессе поэтапного приготовления ликеров в основном зависят от количества добавленного сахара в виноматериал и не зависят от сорта сусла.

Таблица

Изменение физико-химических показателей в результате приготовления сортовых ликёров

Этапы приготовления ликёров	Поверхностное натяжение, мДж/м ²	Относительная вязкость	Плотность, г/см ³	Массовая концентрация сахаров, г/дм ³
Алиготе				
Исходный виноматериал	48,97	1,43	0,988	–
Подготовительный этап	44,67	2,38	1,061	181
I	43,16	2,99	1,070	215
II	44,44	3,70	1,079	284
III	42,09	4,66	1,125	399
Ркацители				
Исходный виноматериал	49,93	1,39	0,990	–
Подготовительный этап	44,67	2,31	1,056	190
I	44,00	2,60	1,066	263
II	42,80	3,32	1,091	300
III	41,74	5,63	1,148	400
Смесь столовых сортов				
Исходный виноматериал	46,30	1,52	0,992	–
Подготовительный этап	40,74	2,84	1,069	185
I	39,79	3,63	1,094	250
II	39,49	4,07	1,102	330
III	39,42	5,54	1,142	380

Поверхностное натяжение – показатель, который имеет существенное значение в игристом виноделии. По А.А. Мерджаниану известно, что поверхностное натяжение в значительной степени зависит от объемной доли этилового спирта, причем, чем больше значение объемной доли этилового спирта, тем ниже значение поверхностного натяжения [5, 11, 12]. Необходимо отметить, что объемная доля этилового спирта на подготовительном этапе составляла у сортов Алиготе – 9,35%, Ркацители – 9,44%, смеси столовых сортов – 8,73%. В результате поэтапного

приготовления ликеров наблюдается снижение объемной доли спирта: у Алиготе на 3,10%, Ркацители – 2,85% и смеси столовых сортов – 1,52% [5].

Из таблицы видно, что существенное снижение поверхностного натяжения у всех сортов ликеров происходит на подготовительном этапе, в момент максимального изменения содержания сахара при его загрузке в игристый виноматериал. В дальнейшем при приготовлении ликеров поверхностное натяжение снижается незначительно и равномерно у всех опытных сортов. Таким образом, несмотря на снижение объемной доли спирта в процессе приготовления ликеров, поверхностное натяжение не растет, а снижается. Из этого следует, что сахар также оказывает влияние на снижение поверхностного натяжения. Полученные результаты вполне согласуются с литературными данными [5, 12]. Однако следует отметить, что поверхностное натяжение в полученных ликерах зависит от сорта игристого виноматериала и от количества добавленного сахара.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено, что значение показателей плотности и вязкости ликеров при их поэтапном приготовлении зависят от содержания сахара и не зависят от сорта виноградного сула.
2. Проведенные исследования показали, что значительное увеличение концентрации сахара в сусле приводит к снижению поверхностного натяжения полученных ликеров.

Список литературы

1. Родопуло А.К. Основы биохимии виноделия / А.К. Родопуло. – М. : «Легкая и пищевая промышленность», 1983. – 240 с.
2. Нилов В.И. Химия виноделия. 2-е издание, дополненное и переработанное / В.И. Нилов, И.М. Скурихин. – М. : Пищевая промышленность, 1967. – 215 с.
3. Косюра В.Т. Игристые вина. История, современность и основные направления производства / Косюра В.Т. – Краснодар, 2006. – 504 с.
4. Панова Э.П. Влияние низких температур на физико-химические свойства виноградного сула / Э.П. Панова, Г.Н. Кацева, В.Е. Бурда // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия: Биология, Химия. – 2010. – Т. 23 (62), № 1. – С. 40–47.
5. Бурда В.Е. Изменение химического состава ликёра в процессе ступенчатого приготовления / В.Е. Бурда, Д.А. Панов // Учёные записки Таврического Национального университета им. В.И. Вернадского. Серия: Биология, Химия. – 2012. – Т. 25(64), №2. – С. 219–223.
6. Мерджаниан А.А. Физико-химия игристых вин / А.А. Мерджаниан. – М. : «Пищевая промышленность», 1979. – 271с.
7. Технологічна інструкція на виробництво вин ігристих : Ті У 00011050-15.93.11 – 3:2009 – [затверджена 2009-07-21]. – К.: Міністерство аграрної політики України, 2009 – 41 с.
8. Авакянц С.П. Игристые вина / Авакянц С.П. – М. : «АГРОПРОМИЗДАТ», 1986. 272 с.
9. Харин С.Е. Вязкость водно-спиртово-сахарных растворов / С.Е. Харин, В.И. Целинская // Известие вузов СССР. Пищевая технология, 1959. – № 4. – С. 147–154.
10. Харин С.Е. вязкость водно-спиртовых и водно-спиртово-сахарных растворов в зависимость от состава и температуры / С.Е. Харин, А.А. Книга // Известие вузов СССР. Пищевая технология. – 1964. – № 5. – С. 135–139.
11. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии / С.С. Воюцкий. – [2-е изд.]. – М. : Химия, 1975. – 572 с.
12. Мерджаниан А.А. Поверхностное натяжение вина / А.А. Мерджаниан // Известие вузов СССР. Пищевая технология. – 1963. – № 2. – С. 99–102.

Бурда В.Е Зміна фізико-хімічних властивостей виноградних сусел при поетапному приготуванні резервуарних лікерів / **В.Е. Бурда, Д.О. Панов** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 206-210.

У роботі наведені результати досліджень змін в'язкості, густини та поверхневого натягу виноградних сусел сортів Аліготе, Ркацителі та суміші столових сортів винограду в процесі триступеневого додавання цукру. Ці величини отриманих резервуарних лікерів впливають на характер «гри» вина і піноутворення.

Ключові слова: в'язкість, поверхневий натяг, резервуарний лікер, цукор.

Burda V.E. The Changes in the physic-chemical properties of grape musts by a phased reservoir liquor preparation / V.E. Burda, D.A. Panov // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 206-210.

The paper presents the results of studies of viscosity, density and surface tension changes of musts Aligote, Rkatsiteli and table grapes composites in a three-step process of adding sugar. These values are derived reservoir liquors affect the nature of the "game" of wine and foaming.

Keywords: viscosity, surface tension, reservoir liqueur, sugar.

Поступила в редакцію 18.05.2013 г.

УДК 539.196 + 543.422

**ОБ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПОГРЕШНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПО ИК-СПЕКТРАМ КОНСТАНТЫ РАВНОВЕСИЯ ОБРАЗОВАНИЯ
КОМПЛЕКСОВ С ВОДОРОДНОЙ СВЯЗЬЮ В СЛУЧАЕ
САМОАССОЦИИ ДОНОРА ПРОТОНА**

Валиев Э.В., Шейх-Заде М.И.

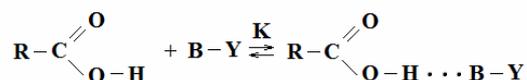
*РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина
E-mail: envervaliyev@ukr.net*

Теоретически рассмотрена реакция образования комплексов с водородной связью при наличии самоассоциации донора протона. Получены и проанализированы графики зависимостей ϵ_K от γ , K , C_0^d , K_d . Выявлены условия эксперимента, при которых ϵ_K может быть получена со значением меньшим, чем заранее заданная величина ϵ .

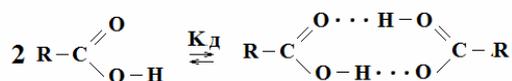
Ключевые слова: водородная связь, донор протона, акцептор протона, константа равновесия, относительная погрешность, самоассоциация.

ВВЕДЕНИЕ

Для определения термодинамических характеристик образования комплексов с водородной связью (ВС) широко применяется ИК-спектроскопия. При этом стремятся работать с разбавленными растворами в инертных средах, чтобы изучаемый процесс образования комплексов с ВС был единственным. Однако, в силу ряда причин, добиться этого на практике удается не всегда и в этих случаях в растворе имеется конкурирующий процесс самоассоциации донора протона. Типичным примером такой ситуации являются системы донор-акцептор протона, в которых в качестве донора протона выступают карбоновые кислоты. В этом случае наряду с исследуемым равновесием



имеет место конкурирующее равновесие



самоассоциации донора протона с образованием циклических димеров.

Задачей данной работы являлось изучение влияния γ на величину ε_K при наличии в растворе конкурирующего равновесия (2) с целью выявления условий эксперимента, при которых ε_K будет меньше заранее заданной величины ε .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ИК-спектры поглощения снимались на приборах ИКС-22 и SPECORD IR-75. Для калибровки использовались значения волновых чисел основных полос в спектре тонкой пленки полистирола (2924, 1603, 1495, 1154, 1028, 906 и 700 обратных сантиметров). Спектры растворов снимались в кюветах из монокристалльного материала KRS-5 (TlI-TlBr). Температурные измерения спектров поглощения проводили в специальной термостатируемой ячейке с окнами из материала KRS-5.

Изменение энтальпии ΔH и энтропии ΔS процесса (1) можно найти из температурной зависимости константы равновесия K этого процесса. При этом погрешности в значениях ΔH и ΔS будут зависеть от погрешностей в значениях K , полученных из ИК-спектров. Описание ряда факторов, влияющих на точность спектрофотометрического количественного анализа проведено, например, в работах [1,2]. В работе [3] рассмотрено влияние соотношения $\gamma = C_0^b/C_0^a$ между исходными концентрациями донора C_0^a и акцептора C_0^b протона на относительную погрешность ε_K константы равновесия процесса (1) при отсутствии самоассоциации донора протона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Константа равновесия процесса (1) с учетом конкурирующего процесса (2) имеет вид:

$$K = \frac{C_0^a - C^a - 2 \cdot K_d \cdot (C^a)^2}{C^a \cdot [(\gamma - 1) \cdot C_0^a + C^a + 2 \cdot K_d \cdot (C^a)^2]}, \quad (3)$$

где C^a – концентрация свободных молекул донора протона, K_d – константа димеризации донора протона. Выражение для ε_K , полученное из (3), имеет вид:

$$\varepsilon_K = \frac{\gamma \varepsilon_1 + (1 - \alpha - \beta)^2 - \gamma(1 - \beta) \varepsilon_2 + \gamma(1 - \alpha - \beta) \varepsilon_3 + \gamma \beta \varepsilon_4}{(1 - \alpha - \beta) \cdot [\gamma - (1 - \alpha - \beta)]}, \quad (4)$$

где $\alpha = C^a/C_0^a$, $\beta = C_d/C_0^a$, $\varepsilon_1, \varepsilon_2, \varepsilon_3, \varepsilon_4$ – соответственно относительные погрешности величин C_0^a, C^a, C_0^b, C_d (C_d – концентрация димеров донора протона).

Определение условий эксперимента, при которых ε_K как функция от γ будет минимальна или меньше заранее заданной величины ε , проводили решением уравнения (4) и построением семейства графиков зависимости ε_K от γ для фиксированных значений C_0^a, K_d и K . Необходимые для этого значения C^a находились из уравнения (3) при заданных значениях C_0^a, γ, K, K_d . Для расчетов необходимо также задать значения ε_i . Как и в работе [3], мы приняли $\varepsilon_1 = \varepsilon_3 = 0,01$; $\varepsilon_2 = 0,05$. Обоснование этих оценок приведено в [3]. Для ε_4 мы приняли $\varepsilon_4 = 0,05$, что на практике является нижним пределом.

Полученные таким образом графики зависимостей ε_K от γ для нескольких значений K при фиксированных значениях C_0^a и K_d приведены на рис.1. Аналогичные зависимости получены для значений C_0^a и K_d в интервалах $0,001 \leq C_0^a \leq 0,025$ моль/л ; $150 \leq K_d \leq 6500$ л/моль.

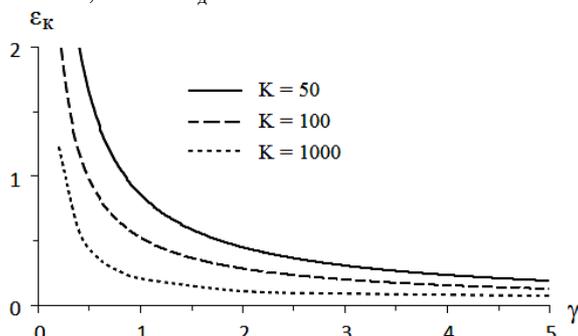


Рис. 1. Графики зависимостей ε_K от γ . $C_0^a = 0,005$ моль/л. $K_d = 500$ л/моль.

Как видно из рис.1, при $\gamma < 1$ величина ε_K резко возрастает для всех значений K ; особенно велики значения ε_K для малых K . Возможные причины такого поведения ε_K рассмотрены в [3]. Сравнение результатов данной работы и работы [3] показывает, что в случае самоассоциации донора протона значения ε_K имеют большее значение (при тех же значениях C_0^a и K). Эта разница весьма существенна при малых K . Только при $K > K_d$ и $\gamma \geq 5$ значения ε_K становятся сопоставимыми для двух случаев ($K_d = 0$ и $K_d > 0$).

Из рис.1 можно видеть, что значения ε_K зависят и от самой величины K . На рис.2 графики таких зависимостей приведены для нескольких значений γ при фиксированных значениях C_0^a и K_d .

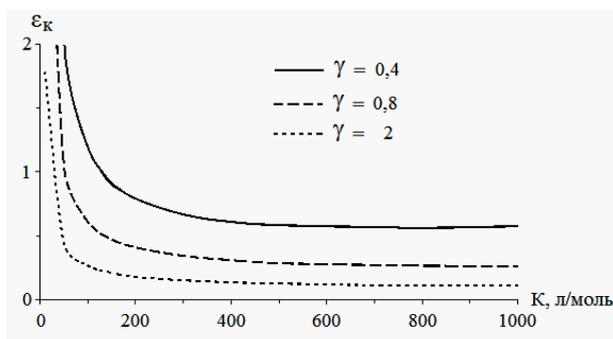


Рис. 2. Графики зависимостей ε_K от K . $C_0^a = 0,005$ моль/л. $K_d = 500$ л/моль.

Рисунки 1 и 2 демонстрируют, что за счет выбора значений γ можно свести величину ε_K до приемлемо малого значения.

Анализ полученных результатов показал, что ε_K зависит также от C_0^a и K_d . Графики зависимостей ε_K от C_0^a приведены на рис.3 для нескольких значений K при фиксированных значениях γ и K_d .

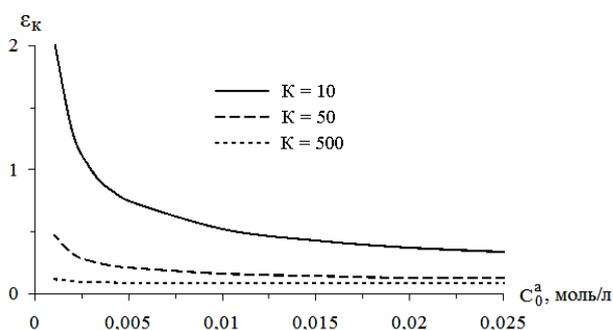


Рис. 3. Графики зависимостей ε_K от C_0^a . $\gamma = 5$, $K_d = 500$ л/моль.

Как видно из этих графиков, значения ε_K растут с уменьшением C_0^a , особенно при малых K . Поэтому для получения приемлемых значений ε_K нужно использовать возможно большие значения C_0^a , которые, однако, могут быть ограничены сверху, например, растворимостью донора протона при данной температуре, значением оптической плотности в максимуме аналитической полосы, применимостью положений теории разбавленных растворов или другими причинами.

На рис.4 приведены зависимости ε_K от K_d для нескольких значений γ при заданных значениях C_0^a и K .

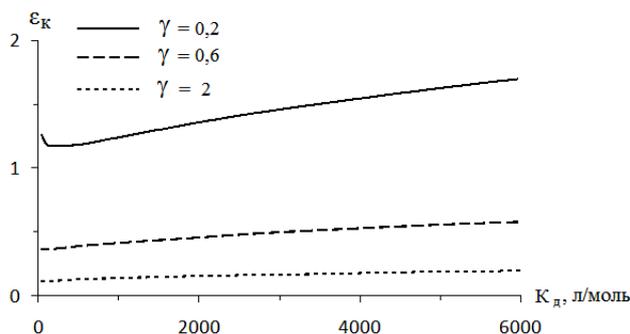


Рис. 4. Графики зависимостей ε_K от K_d . $C_0^a = 0,005$ моль/л. $K = 500$ л/моль.

Из рис.4 можно видеть, что: 1 – для всех γ ε_K растет при увеличении K_d ; 2 – ε_K неприемлемо велики для всех значений K_d при $\gamma < 3$.

Полученные результаты позволяют построить графики зависимостей ε_K от γ , K , C_0^a , K_d для каждого конкретного случая и выявить условия эксперимента, при которых величина ε_K может быть сведена до практически достижимого минимума для заданной пары донор-акцептор протона. В частности, при $K > K_d$ для получения значений $\varepsilon_K \approx 8 \div 10 \%$ необходимо использовать значения $\gamma > 5$. Аналогичные

результаты можно получить для любого донора протона с учетом соответствующего выражения для K_d .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты дают возможность выбрать условия эксперимента, при которых величину ϵ_K можно свести до заранее заданного приемлемо малого значения в случае сомоассоциации донора протона.

Список литературы

1. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия / А. Смит. – М.: Мир, 1982. – 328 с.
2. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – Л.: Химия, 1976. – 376 с.
3. Валиев Э.В., Шейх-Заде М.И. О минимизации относительной погрешности спектрофотометрического определения константы равновесия образования комплексов с водородной связью/ Э.В. Валиев, М.И. Шейх-Заде // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия» – 2012. – т.25(64). – №2. – С.224–227.

Валієв Е.В. Про відносну похибку визначення по ІЧ-спектрах константи рівноваги утворення комплексів з водневим зв'язком у випадку самоасоціації донора протона / Е.В. Валієв, М.І. Шейх-Заде // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 211-215.

Теоретично розглянута реакція утворення комплексів з водневим зв'язком за наявності самоасоціації донора протона. Отримані і проаналізовані графіки залежностей ϵ_K від γ , K , C_0^a , K_d . Виявлено умови експерименту, при яких ϵ_K може бути отримана зі значенням меншим, ніж заздалегідь задана величина ϵ .

Ключові слова: водневий зв'язок, донор протона, акцептор протона, константа рівноваги, відносна похибка, самоасоціація.

Valiev E.V. The relative error in the IR spectra determination of the equilibrium constant of complexes formation with a hydrogen bond in the case of proton donor self-association / E.V. Valiev, M.I. Sheikh-Zade // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 211-215.

Theoretically considered reaction of hydrogen-bonded complexes in the presence of self-association of the proton donor. Obtained and analyzed graphs of ϵ_K versus γ , K , C_0^a , K_d . Identify conditions of the experiment in which ϵ_K can be obtained with a value less than the predetermined value.

Keywords: hydrogen bond, proton donor, proton acceptor, the equilibrium constant, the relative error, self-association.

Поступила в редакцію 19.05.2013 г

УДК 547.963.1

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ГЛИКОЗИДОВ МУРАМОИЛДИПЕПТИДА С АЛИФАТИЧЕСКИМИ АГЛИКОНАМИ C₁₀-C₁₄

Земляков А.Е., Цикалова В.Н.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: alex_z56@mail.ru

Изучена стимуляция β -алкилгликозидами мурамоилдипептида антиинфекционной резистентности мышей к заражению *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Исследовано прямое цитотоксическое действие этих гликопептидов на клетки эритробластного лейкоза человека К-562 и мононуклеарные клетки крови (МНК), а также их влияние на продукцию МНК естественных киллеров и пролиферативную активность.

Ключевые слова: мурамоилдипептиды; гликозиды мурамоилдипептида, антиинфекционная резистентность, цитотоксичность, пролиферация.

ВВЕДЕНИЕ

На иммуностимулирующую активность липофильных производных *N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (мурамоилдипептида, MDP) существенное влияние оказывает структура липофильной компоненты и реализующееся при этом определенное соотношение гидрофильно-липофильных свойств. β -Гликозиды MDP с линейными алифатическими агликонами C₄-C₈ [1, 2], обладающие амфифильными свойствами, показали высокую иммуностимулирующую активность в различных тестах *in vitro* и *in vivo*, превышающую действие самого мурамоилдипептида [2]. В частности, β -гептилгликозид MDP проявил себя как эффективный адъювант [3], стимулятор антиинфекционной резистентности [4] и препарат для иммунотерапии опухолей [5].

Другую группу составили более липофильные алкил-*O*-гликозиды мурамоилдипептида с агликонами C₁₀-C₁₈. Установлено, что β -децил-MDP обладает умеренным протективным эффектом в отношении зараженных гриппом мышей, β -децил- и β -додецил-MDP ингибируют бактериальную биолюминесценцию [6], а β -гексадецил-MDP [1] стимулирует продукцию ряда монокинов [7].

В данном сообщении приводятся результаты изучения иммуномодулирующей активности β -децил- (**2a**), β -додецил- (**2b**), β -тетрадецил- (**2c**) гликозидов мурамоилдипептида в ряде экспериментов *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез гликозидов MDP **2a-c** описан в [6]. В качестве референс-контроля в ряде тестов использовали MDP (**1**). Спектры ¹H ЯМР получены на приборе Varian VXR-

300 (300 МГц), спектры COSY на спектрометре Varian Mercury 400, растворитель – ДМСО- d_6 , внутренний стандарт – Me_4Si . Приведены химические сдвиги (δ -шкала) и константы спин-спинового взаимодействия (J , Гц).

Тестирование протективной активности производных MDP, а также их влияния на ЕК-активность МНК и прямое цитотоксическое действие проводили по методикам, приведенных в [8, 9]. Результаты биологических исследований любезно предоставлены д.м.н., профессором О.В. Калюжиным (НИИ морфологии человека РАМН, Москва, РФ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структура β -алкилгликозидов MDP **2a-c** была подтверждена данными 1H ЯМР-спектроскопии (см. Табл.). С целью более точного отнесения ряда сигналов, в т. ч. аномерного протона и амидных протонов, был поучен спектр COSY для γ -бензилового эфира производного **2b** (Рис. 1).

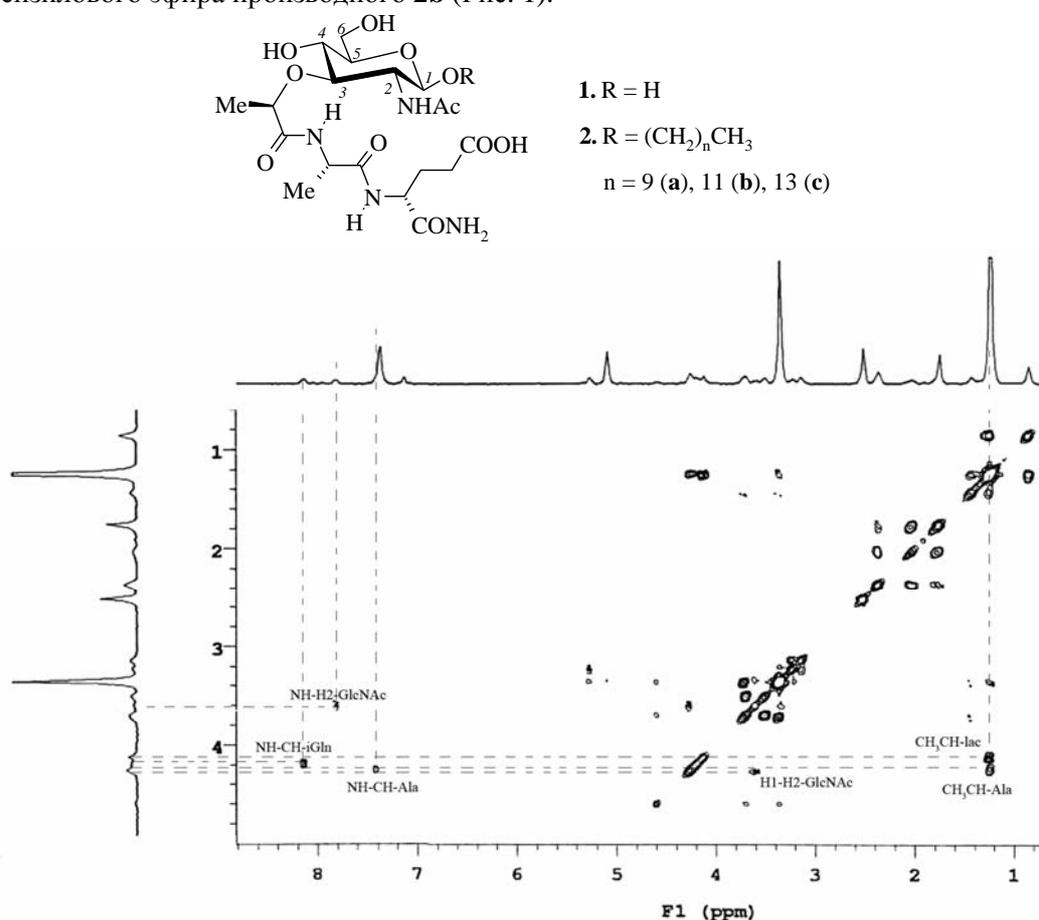


Рис. 1. Фрагмент спектра COSY β -додецилгликозида **2b**.

Первоначальное исследование способности гликозидов мурамоилдипептида **2a-c** в диапазоне доз 2 – 200 мкг/мышь стимулировать резистентность мышей к бактериальному поражению, проведенное на модели сепсиса, вызываемого внутрибрюшинным введением летальной дозы *Staphylococcus aureus*, не позволило выявить каких-либо закономерностей. Все соединения проявили 100% защитный эффект. Поэтому повторный эксперимент проводили с использованием доз 0,1, 2 и 40 мкг/мышь. Данные, приведенные на Рис. 2А, свидетельствуют о том, что наибольшее протективное действие оказывали β -децил- и β -додецилгликозиды MDP **2a,b** в дозе 40 мкг/мышь. Для этих соединений наблюдается четкий дозозависимый эффект.

Таблица

Характеристические сигналы ^1H ЯМР-спектров соединений **2a-c**

Группа или атом	Химические сдвиги, м.д. (КССВ, Гц)		
	2a	2b	2c
OR: CH_2CH_3	0,87т	0,85т	0,87т
(CH_2) _n	1,24м, 1,45м	1,24м, 1,43м	1,24м, 1,44м, 1,56м
Mur: H1 ($J_{1,2}$)	4,25д (8,5)	4,26д (8,5)	4,25д (8,5)
<u>NAc</u>	1,76с	1,75с	1,76с
NH	7,73д	7,79д	7,76д
C4-OH	5,18уд	5,25уд	5,16уд
C6-OH	4,55ут	4,54ут	4,53ут
<u>CH₃CHCO</u>	1,24м	1,23м	1,23м
Ala: <u>CH₃CH</u>	1,24м	1,23м	1,23м
NH	7,38д	7,39д	7,41д
iGln: γ -CH ₂	2,19т	2,19т	2,17т
β -CH ₂	1,73м, 1,97м	1,73м, 1,97м	1,71м, 1,96м
CONH ₂	6,99с, 7,26с	7,05с, 7,30с	6,98с, 7,25с
NH	8,04д	8,10д	8,13д

Изучение протективного эффекта гликозидов **2a-c** к заражению мышей *Escherichia coli* показало оппозитные результаты (см. Рис. 2Б). Наиболее активным был β -тетрадецил-MDP **2c** в дозе 1 мкг/мышь.

Для гликозидных производных **2a-c** также было изучено прямое действие на клетки эритробластного лейкоза человека К-562 и мононуклеарные клетки крови (МНК) (Рис. 3). Тетрадецилгликозид MDP **2c** продемонстрировал достоверное цитотоксическое действие на опухолевые клетки только в концентрации 200 мкг/мл. Два других гликозида мурамоилдипептида не влияли на жизнеспособность лейкозных клеток. Повышение цитотоксической активности гликозидов MDP с ростом липофильности ранее отмечалось для β -диалкилметилгликозидов мурамоилдипептида [9]. Все три исследуемых гликозида практически не влияли на МНК здоровых клеток.

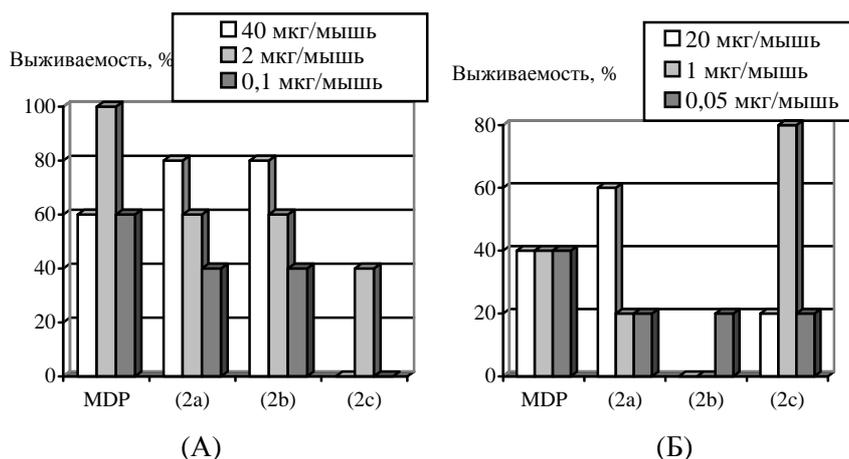


Рис. 2 Влияние гликозидов MDP **2a-c** на протективный эффект к заражению мышей культурой *S. aureus* (10⁹ клеток/мышь) (А) и *E. coli* (2·10⁷ клеток/мышь) (Б).

При совместной инкубации клеток К-562, чувствительных к естественным киллерам (ЕК), и МНК, обработанных тестируемыми веществами, существенные цитотоксические эффекты отмечались только для концентраций 20 и 200 мкг/мл (Рис. 3). При этом для тетрадецилгликозида MDP **2c** характерна собственная высокая цитотоксичность. В тоже время эффекты β-децил- и β-додецилгликозидов MDP **2a,b** в основном связаны со способностью индуцировать ЕК-активность МНК.

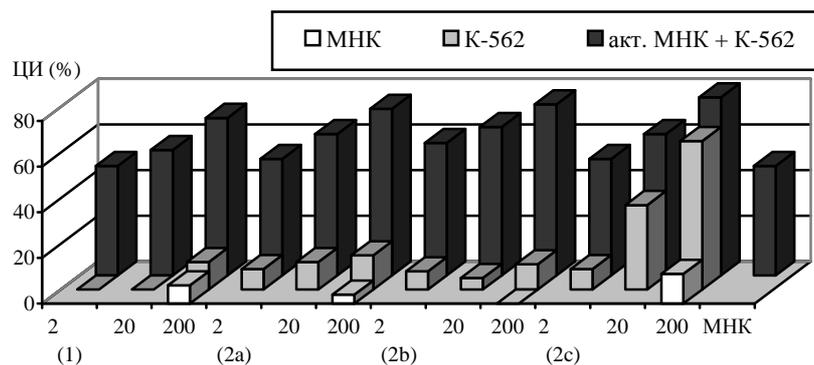


Рис. 3. Влияние гликозидов MDP **2a-c** на ЕК-активность МНК и прямое цитотоксическое действие на клетки К-562 и МНК; ЦИ – цитотоксический индекс.

Важность определенного гидрофильно-липофильного баланса для проявления биологической активности гликозидных производных мурамоилдипептида еще раз подчеркивают результаты изучения пролиферативной активности МНК (Рис. 4). Только β-додецилгликозид MDP **2b** достоверно стимулировал пролиферацию.

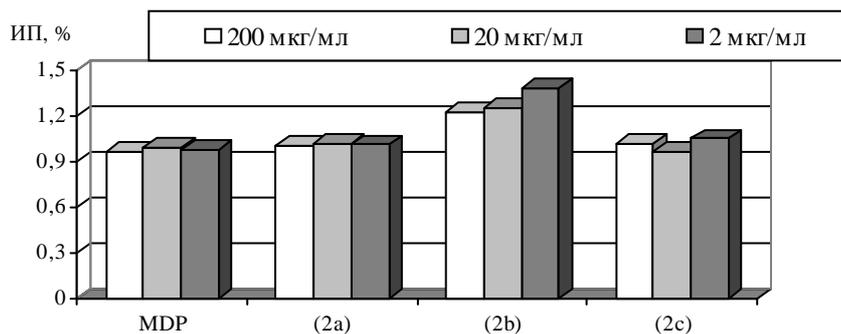


Рис. 4. Влияние гликозидов MDP 2а-с на пролиферативную активность МНК; ИП – индекс пролиферации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлен протективный эффект при заражении мышей культурой *S. aureus* для β -децил- и β -додецил-MDP в дозе 40 мкг/мышь и в случае *E. coli* – для β -тетрадецил-MDP в дозе 1 мкг/мышь.
2. Выявлено цитотоксическое действие β -тетрадецил-MDP на клетки эритробластного лейкоза человека К-562 и стимуляцию ЕК-активности МНК β -децил- и β -додецил-MDP.
3. Из исследуемой группы гликопептидов только β -додецил-MDP достоверно стимулировал пролиферативную активность МНК.

Список литературы

1. Земляков А.Е. Синтез гликозидных аналогов N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина / А.Е. Земляков, В.Я. Чирва // Химия природн. соедин. – 1987. – № 5. – С.714–718.
2. Земляков А.Е. Гликозиды N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина. Синтез и исследование влияния конфигурации гликозидной связи и природы агликона на биологическую активность / А.Е. Земляков, В.В. Цикалов, О.В. Калюжин [и др.] // Биоорган. химия. – 2003. – Т. 29, № 3. – С. 316–322.
3. Калюжин О.В. Иммуномодулирующая активность β -гептилгликозид-мурамоилдипептида in vivo / О.В. Калюжин, Н.С. Захарова, М.В. Брицина [и др.] // Бюл. exper. биол. – 1999. – № 11. – С. 553–554.
4. Калюжин О.В. Стимуляция неспецифической резистентности мышей β -гептилгликозид-мурамоилдипептидом / О.В. Калюжин, В.В. Калюжин, А.Е. Земляков [и др.] // Бюл. exper. биол. – 1999. – № 5. – С. 543–545.
5. Калюжин О.В. Амфифильный дериват мурамилдипептида в терапии мышинной лимфомы EL-4 / О.В. Калюжин, М.В. Нелюбов, Ф.Н. Кузовлев [и др.] // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. – 2001. – № 1. – С. 45–46.
6. Земляков А.Е. Синтез и биологическое действие липофильных β -алкилгликозидов мурамоилдипептида / А.Е. Земляков, В.Н. Цикалова, В.В. Цикалов [и др.] // Журн. орг. фарм. химії. – 2005. – Т. 3, вип. 3(11). – С. 52–57.
7. Медведев А.Э. Изучение иммуномодуляторной активности новых производных мурамоилдипептида in vitro / А.Э. Медведев, Б.Б. Фукс, Н.В. Бовин [и др.] // Бюл. exper. биол. – 1992. – № 12. – С. 626–628.
8. Земляков А.Е. Синтез и протективное антиинфекционное действие аномеров липофильных гликозидов N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина / А.Е. Земляков, В.Н. Цикалова, В.В. Цикалов [и др.] // Биоорган. химия. – 2006. – Т. 32, № 4. – С. 424–431.

9. Земляков А. Е. β-Диалкилметилгликозиды N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина: синтез, протективное антиинфекционное и цитотоксическое действие / А.Е. Земляков, В.Н. Цикалова, В.В. Цикалов [и др.] // Биоорган. химия. – 2008. – Т. 34, № 1. – С. 114–120.

References

1. Zemlyakov A. E. and Chirva V. Ya. *Chem. Nat. Comp.*, 595 (1987).
2. Zemlyakov A. E., Tsikalov V. V., Kalyuzhin O. V., Kur'yanov V. O., and Chirva V. Ya. *Rus. J. Bioorg. Chem.*, **29**, 286 (2003).
3. Kalyuzhin O. V., Zaharova N. S., Britsina M. V., Zemlyakov A. E., and Kalyuzhin V. V. *Byull. Eksp. Biol.*, 553 (1999).
4. Kalyuzhin O. V., Kalyuzhin V. V., Zemlyakov A. E., Elkina S. I., Shkalev M. V., and Sergeev V. V. *Byull. Eksp. Biol.*, 543 (1999).
5. Kalyuzhin O. V., Nelyubov M. V., Kuzovlev F. N., Kalyuzhina M. I., Zemlyakov A. E., Shkalev M. V., Mulik E. L., and Karaulov A. V. *Vopr. Biol. Med. Farm. Khim.*, 45 (2001).
6. Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Tsikalov V. V., Chirva V. Ya., Maligina V. Yu., Katsev A. M., and Krivorutchenko Yu. *Zh. Org. Farm. Khim.*, **3**, 52 (2005).
7. Medvedev A. E., Fucks B. B., Bovin N. V., and Zemlyakov A. E. *Byull. Eksp. Biol.*, 626 (1992).
8. Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Tsikalov V. V., Chirva V. Ya., Mulik E. L., and Kalyuzhin O. V. *Rus. J. Bioorg. Chem.*, **32**, 382 (2006).
9. Zemlyakov A. E., Tsikalova V. N., Tsikalov V. V., Chirva V. Ya., Mulik E. L., Kuzovlev F. N., Kalyuzhin O. V., and Kiselevsky M. V. *Rus. J. Bioorg. Chem.*, **34**, 103 (2008).

Земляков О.С. Імуномодуючи властивості глікозидів мурамоїлдипептиду з аліфатичними агліконами C₁₀-C₁₄ / О.С. Земляков, В.М. Цикалова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 216-221.

Вивчено стимуляція β-алкілглікозидами мурамоїлдипептиду антиінфекційної резистентності мишей до зараження *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*. Досліджено пряма цитотоксична дія цих глікопептидів на клітини еритробластного лейкозу людини К-562 і мононуклеарні клітини крові (МНК), а також їх вплив на продукцію МНК природних кілерів і проліферативну активність

Ключові слова: мурамоїлдипептиди; глікозиди мурамоїлдипептиду, антиінфекційна резистентність, цитотоксичність, проліферація.

Zemlyakov A.E. The immunomodulatory properties of muramyl dipeptide glycosides with aliphatic aglycones C₁₀-C₁₄ / A.E. Zemlyakov, V.N. Tsikalova // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 216-221.

Immunomodulatory activity of β-decyl-, β-dodecyl- and β-tetradecylglycosides of muramyl dipeptide in a series of experiments *in vitro* and *in vivo* was studied. The structure of glycopeptides were confirmed by ¹H NMR spectroscopy and COSY experiments.

The ability of muramyl dipeptide glycosides stimulate antibacterial resistance of mice by intraperitoneal introduction of lethal dose of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was investigated. The maximum protective action provided β-decyl- and β-dodecylglycosides MDP in the dose of 40 μg/mouse (*S. aureus*) and β-tetradecyl- MDP in a dose of 1 μg/mouse (*E. coli*).

Direct action of glycoside derivatives were studied on the human erythroleukemia cells and blood mononuclear cells (BMC). Significant cytotoxic effect on tumor cells was showed β-tetradecyl-MDP at a concentration of 200 g/ml only.

Joint incubation of cells K-562, which are sensitive to natural killer (NK), and activated BMC were revealed the ability of the β-decyl- and β-dodecylglycosides MDP induce the spontaneous NK activity in BMC population.

From the study group glycopeptides reliably stimulated the proliferative activity of BMC β-dodecyl-MDP only.

Keywords: muramyl dipeptides, glycosides of muramyl dipeptide, anti-infections resistance, cytotoxicity, proliferation.

Поступила в редакцію 16.05.2013 г.

УДК 581.192:633.885

ЛИПИДЫ ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ РАСТЕНИЙ *ARTEMISIA* *BALCHANORUM* KRASCH

Котиков И.В.¹, Ходаков Г.В.²

¹РВУЗ «Крымский гуманитарный университет», Ялта, Украина

²Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Украина
E-mail: alfa_001_your_partner@mail.ru

Из надземной части растений *Artemisia balchanorum* Krasch. выделено четыре тритерпена олеананового ряда – α - и β -амирины и их ацетаты, а также один липид – фитол. Структуры веществ доказаны на основании химических превращений и спектральных данных. Выделенные вещества впервые обнаружены в растениях исследуемого растительного вида
Ключевые слова: α - и β -амирины, фитол.

ВВЕДЕНИЕ

Artemisia balchanorum Krasch. – растение, культивируемое для получения эфирного масла, отдельные компоненты которого находят широкое применение в парфюмерно-косметической, пищевой и медицинской промышленности. К ним относятся α - и β -цитраль (соответственно нераль и гераниаль), а также линалоол и гераниол [1]. Введение этого растения в культуру и селекционная работа с ним [2], направленная на улучшение его основных хозяйственно-ценных признаков, были связаны с тем, что еще в СССР, нужные для вышеперечисленных отраслей промышленности, компоненты эфирного масла импортировались в составе дорогостоящих кориандрового и лимонграссового масел.

Ранее нами исследовалось накопление эфирных масел и их компонентов на протяжении всей вегетации у ряда сортообразцов, полученных сотрудниками Государственного Никитского ботанического сада (сейчас НБС-ННЦ НААНУ) от интродуцированного в Крым среднеазиатского природного вида. Их селекция была направлена в сторону увеличения массовой доли эфирного масла и обогащения его цитралем, линалоолом и гераниолом соответственно [2]. В результате были получены сортообразцы с преимущественным преобладанием в эфирном масле какого-либо из вышеперечисленных компонентов. Проведенные нами исследования позволили сделать вывод о том, что селекционная работа не изменила качественного состава компонентов эфирного масла изученных сортообразцов, часть из которых была нами идентифицирована. Установлена их принадлежность к монотерпенам (идентифицированные компоненты: мирцен, 1,8-цинеол, γ -терпинен, α -туйон, линалоол, β -туйон, камфора, борнеол, цитронеллаль, терпинеол, нераль,

гераниаль, оксцитронеллаль, геранилацетат, геранилпропионат). Различия между сортообразцами, между сортообразцами и природной формой касались лишь количественных соотношений компонентов эфирного масла. Кроме того, наиболее перспективный сортообразец, который принадлежал к цитральному направлению селекции, был размножен нами микроклонально. Из полученной растительной массы было выделено эфирное масло, качественный и количественный анализ которого показал его идентичность маслу исходной материнской формы [3].

Кроме монотерпенов в растениях представленного вида разными авторами были обнаружены вещества сесквитерпеной природы: балханолид, изобалханолид, гидроксibalханолид [4], балханин [5] и костунолид [4, 6].

У одного из представителей этого рода растений, а именно у *Artemisia annua*, был обнаружен тритерпен – ацетат β -амирина [7].

Результаты данного исследования получены авторами в период их работы в НБС-ННЦ УААН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал исследований – воздушно-сухое сырьё из надземной части растений *Artemisia balchanorum* Krasch. (1 кг), культивируемых в Крыму. Используемые системы растворителей для выделения веществ: 1) гексан-бензол (7:1), 2) бензол-ацетон (4:1). Условия ТСХ, КХ и ИК-спектроскопии приведены в статье Г.В. Ходакова с соавторами [8].

Качественное исследование веществ проводили методом хроматоспектроскопии на хроматографе Agilent Technologies 6890 (США) с плазменно-ионизационным детектором. Условия хроматографического анализа: колонка кварцевая длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм, газ-носитель: гелий, расход газа-носителя: 1 мл/мин, температура испарителя: 249°C, температура термостата, программированная от 50°C до 230°C (3°C/мин), объем вводимого образца: 0,1 мкл.

Масс-спектрометрический анализ проводили на спектрометре Bruker Daltonics.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Воздушно-сухое сырьё *A. balchanorum* настаивали в ацетоне. Затем экстракт концентрировали, хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя системой растворителей 1, получая липидную фракцию в виде вязкой золотистой жидкости. Жидкость хроматографировали на колонке с силикагелем, промывая системой растворителей 1. В результате выделили вещество **1**.

Полученное вещество **1**: $C_{20}H_{40}O$, EI-MS m/z (%): 296 [M] (2), 278[M-H₂O]⁺ (5), 196 (6), 197 (5), 137 (10), 123 (61), 111 (34), 95 (42), 81 (58), 71 (100). Сравнивая эти данные с данными литературы [9], а также используя ГЖХ-метод, вещество **1** идентифицировали с фитолом.

Продолжая элюировать экстракт системой растворителей 2 выделили кристаллические вещества (**2**) и (**3**).

Вещество **2** с т.пл. 169–169,5, M⁺ 426, состава $C_{30}H_{50}O$. В ИК-спектре (KBr, ν , cm^{-1}) этого соединения наблюдаются полосы поглощения гидроксильной группы

(3460-3400). Масс-спектральная характеристика вещества **2** характерна для пентациклических тритерпеноидов олеанан-12-енового ряда, потому что в масс-спектре наблюдаются пики ионов с m/z 218 и 207, возникшие вследствие ретродиенового распада. По данным спектрального и ТСХ-анализов предположительно вещество **2** является амирином.

Вещество **3** с т.пл. 193–195, M^+ 468, состава $C_{32}H_{52}O_2$. В ИК-спектре (КВг, ν , cm^{-1}) этого соединения наблюдаются полосы поглощения сложноэфирной связи (1735-1260). Щелочной гидролиз вещества **3** 0,5%-ным метанольным раствором гидроксида калия при комнатной температуре привёл к получению продукта, идентифицированного на основании температуры плавления и ТСХ-анализа с веществом **2**. Предположительно вещество **3** является ацетатом амирина.

Температуры плавления веществ **2** и **3** указывают, что они не являются индивидуальными.

С помощью ГЖХ в каждом веществе обнаружили два пика, которые методом внутренних стандартов были идентифицированы: в веществе **2** с α - и β -амиринами, в веществе **3** с ацетатами α - и β -амиринов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Из надземной части растений *Artemisia balchanorum* Krasch., культивируемых в Крыму, выделено четыре известных тритерпена олеананового ряда – α - и β -амирины и их ацетаты, а также один липид – фитол.
2. Выделенные вещества впервые обнаружены в растениях исследуемого растительного вида.

Список литературы

1. Рафанова Р.Я. О химическом составе эфирного масла Туркменской лимонной полыни / Р.Я. Рафанова // Труды НПО «Эфир масло» ВНИИСНД. – 1952. – № 1. – С. 119–120.
2. Логвиненко И.Е. Биологические особенности и хозяйственно-ценные признаки полыни лимонной: дис. на соиск. уч. степени канд. биол. наук: спец. «Ботаника» / И.Е. Логвиненко. – Ялта, 1980. – 273 с.
3. Котиков И.В., Ходаков Г.В., Машанов В.И., Бутенко Р.Г. Сравнительное исследование растений *Artemisia balchanorum* Krasch., полученных *in vivo* и *in vitro*, по ряду основных хозяйственно-ценных признаков / И.В. Котиков, Г.В. Ходаков, В.И. Машанов, Р.Г. Бутенко // Труды НБС-ННЦ УААН: «Физиологические и эмбриологические исследования высших растений». – 2005. – Т. 125. – С. 146–161.
4. Herout V., Suchy M., Sorm F. On terpenes: Isolation and structure of costunolide, balchanolide, isobalchanolide and hydroxybalchanolide, sesquiterpenic lactones of germacrane type from *Artemisia balchanorum* / V. Herout, M. Suchy, F. Sorm // Collect. Czech. Chem. Commun. – 1961. – No. 10. – P. 2612–2623.
5. Suchy M. The structure of balchanin a sesquiterpenic lactone of santonin type from *Artemisia balchanorum* / M. Suchy // Collect. Czech. Chem. Commun. – 1962. – Vol. 27, No. 12. – P. 2925–2928.
6. Herout V., Sorm F. Isolation and structure of costunolide from *Artemisia balchanorum* / V. Herout, F. Sorm // Chem. and Ind. – 1959. – No. 34. – P. 1067–1068.
7. Ulubelen A., Halfon B. Phytochemical investigation of the herba of *Artemisia annua* / A. Ulubelen, B. Halfon // Planta med. – 1976. – Vol. 29, No. 3. – P. 258–260.
8. Ходаков Г.В., Акимов Ю.А., Шашков А.С., Кинтя П.К., Гришконец В.И. Стероидные и тритерпеновые гликозиды представителей крымских видов рода *Melilotus* и их генины. I.

- Мелилотозиды А, В и С из корней *Melilotus albus* / Г.В. Ходаков, Ю.А. Акимов, А.С. Шашков, П.К. Кинтя, В.И. Гришконец // Химия природ. соедин. – 1994. – № 6. – С. 756–759.
9. Gao Yuan, Zheng Cheng-Dong, Li Yong, Fan Chen, Tu Gui-Hua, Gao Jin-Ming Chemical constituents from leaves of allelopathic cultivar sunflower in China / Yuan Gao, Cheng-Dong Zheng, Yong Li, Chen Fan, Gui-Hua Tu, Jin-Ming Gao // Химия природ. соедин. – 2008. – № 6. – С. 625–626.

Котіков І.В. Ліпіди з наземної частини рослин *Artemisia balchanorum* Krasch. / **І.В. Котіков, Г.В. Ходаков** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 222-225.

З наземної частини рослин *Artemisia balchanorum* Krasch. виділено чотири тритерпена олеананового ряду – α - і β -аміріни та їх ацетати, а також один ліпід – фітол. Структури речовин доведено на основі хімічних перетворень і спектральних даних.

Ключові слова: α - і β -аміріни, фітол.

Kotikov I.V. Lipids from above-ground part plants of *Artemisia balchanorum* Krasch. / **I.V. Kotikov, G.V. Khodakov** // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 222-225.

From above-ground part plants of *Artemisia balchanorum* Krasch. is it selected four triterpens oleanan row – α - and β -amyryns and their acetates, and also one lipid – phytol. The structures of compounds are well-proven on the basis of chemical transformations and spectral information.

Keywords: α - and β -amyryns, phytol.

Поступила в редакцію 24.05.2013 г.

УДК 544.54

РАДИОЛИТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ВО ВЛАЖНЫХ ЗЕРНАХ КУКУРУЗЫ, ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ

Мамедов Х.Ф.

*Институт Радиационных Проблем Национальной Академии Наук, Азербайджан
E-mail: xagani06@mail.ru*

Изучены кинетические закономерности радиолиза микотоксинов в водных растворах, в сухих и во влажных семенах кукурузы, пшеницы и ячменя. Определены радиационно-химические выходы реакции разложения микотоксинов в этих системах. Выяснено, что скорость радиолитической деструкции микотоксинов увеличивается по мере увеличения влажности зерен. Предложены механизмы радиолитической деструкции микотоксинов в водных растворах и в зернах.

Ключевые слова: радиолитическая деструкция микотоксинов, зеараленон, охратоксин, афлатоксин.

ВВЕДЕНИЕ

Микроскопические грибки продуцируют в растениях и их плодах микотоксины. Микотоксины являются вторичными метаболитами микроскопических плесневых грибов, обладающие сильными токсическими свойствами. Микотоксины часто обнаруживаются в растительных продуктах. Поражение их микроскопическими грибами происходит в период созревания, уборки урожая, при неблагоприятных метеорологических условиях и неправильном хранении. Прозимовавшие в поле под снегом, сохраненные без предварительной сушки или в непроветриваемых, влажных помещениях и пораженные микроскопическими грибами зерна, как правило, загрязняются микотоксинами. Загрязненные микотоксинами зерна приводят к возникновению токсикозов у животных и людей [1–3].

Выделено более 300 микотоксинов, продуцируемых 350 видами грибов. Однако практическое значение как загрязнители пищевых продуктов имеют около 20 микотоксинов. К этим наиболее распространенным и опасным группам микотоксинов относятся афлатоксины, продуцируемые грибками рода *Aspergillus*, трихотеценовые микотоксины, зеараленон и его производные, продуцируемые грибками рода *Fusarium*, охратоксины, продуцируемые грибками родов *Aspergillus* и *Penicillium*, патулин, лютеоскирин, циклохлоротин, цитреовиридин и цитринин, продуцируемые грибками рода *Penicillium*. Эти микотоксины являются бесцветными, белыми или желтыми кристаллическими, химически стабильными веществами [1, 4, 5].

Облучение ионизирующим излучением широко применяется для стерилизации, дезинфекции и дезинсекции плодов и семян сельскохозяйственных растений, а также для увеличения срока хранения овощей и кормов [6]. Микотоксины

устойчивы к действию физических и химических факторов. Поэтому разрушение их в пищевых продуктах представляет трудную задачу. Традиционные методы технологической и кулинарной термической обработки лишь частично уменьшают содержание микотоксинов в продукте [1, 7–10].

В данной работе изучены закономерности радиолитической деструкции микотоксинов во влажных зернах растений. В качестве вспомогательных систем для определения радиационно-химического выхода разложения микотоксинов в зернах были использованы водные растворы с аналогичными концентрациями микотоксинов. Предложены механизмы деструкции микотоксинов в водных растворах, во влажных и сухих зернах кукурузы, пшеницы и ячменя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Качественное и количественное определение исходных и конечных компонентов в облучаемых водных растворах микотоксинов и анализ сложнокислых спиртовых экстрактов, загрязненных микотоксинами зерен проводили с использованием ЖХ, ГХ, МС, ЖХ-МС, ИФА (LC-10AVP, GCMS-QP 2010, GC-2010) системы фирмы Шимадзу, ИФА-анализаторы фирм R-Biopharm и Teknopol [11-13].

Определения видов и числа микроорганизмов в зараженных зернах проводили с использованием различных селективных питательных сред фирм Hi-media (Индия) и Condalab (Испания), системы RABIT (Англия), счетчиков колоний.

Мощность дозы ионизирующего излучения от источника ^{60}Co радиационно-химической установки К-25 составляла 0,33 Гр/с.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучена кинетика радиолитического разложения афлатоксина и зеараленона, продуцируемых соответственно микроскопическими грибами родов *Aspergillus* и *Fusarium* в кукурузных зернах, охратоксина, продуцируемого грибами рода *Aspergillus* в пшеничных зернах, и зеараленона, продуцируемого грибами рода *Fusarium* в зернах ячменя.

Облучение гамма-излучением ^{60}Co зерен, пораженных микроскопическими грибами и зараженных соответствующими микотоксинами, показали, что поглощенные дозы ионизирующего излучения 10 кГр обеспечивают полную стерилизацию зерен, что приводит к гибели практически всех микроорганизмов в зараженных растительных продуктах [6, 14].

Для изучения кинетики разложения микотоксинов в зернах и в водных растворах были исследованы 3 партии сухих и увлажненных образцов зараженных зерен. Сухая партия зерен имели минимальную остаточную влажность 4%, остальные же две партии этих продуктов имели влажность 20% и 26%, соответственно. Эти 3 партии зерен, загрязненных микотоксинами, а также водные растворы этих микотоксинов, подвергались облучению ионизирующим излучением от источника ^{60}Co дозами 1 кГр, 2,5 кГр, 10 кГр и 25 кГр. Изучены кинетика разложения микотоксинов в водных растворах, а также в сухих и увлажненных (20%, 26%) зернах.

На рис. 1 и 2 показаны кинетические кривые разложения соответственно афлатоксина и зеараленона в водном растворе и кукурузных зернах с различной влажностью (4% и 26%), на рис. 3 показаны кинетические кривые разложения охратоксина в водном растворе и пшеничных зернах с различной влажностью (4%, 20% и 26%) и на рис. 4 показаны кинетические кривые разложения зеараленона в водном растворе и зернах ячменя с различной влажностью (4% и 26%).

Облучение дозой ионизирующего излучения 10 кГр обеспечивает полное разложение микотоксинов в водных растворах. Полное разложение при изучаемых концентрациях микотоксинов в зернах, с влажностью 20–26%, достигается при поглощенных дозах 20–25 кГр. Однако, поглощенная доза ионизирующего излучения, равная 25 кГр, снижает большие концентрации микотоксинов в сухих зернах (200-300 мкг/кг) только на 65–75%.

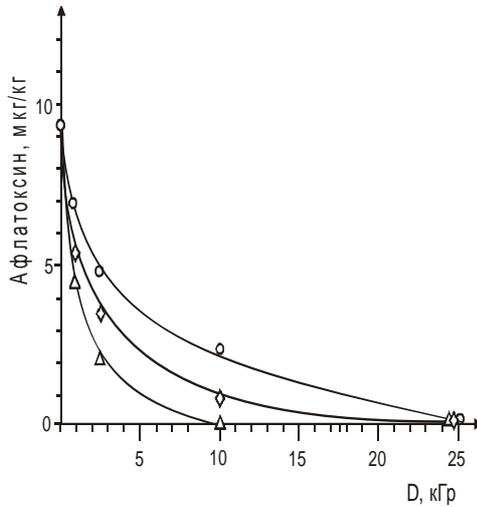


Рис. 1. Зависимость концентрации афлатоксина от дозы ионизирующего излучения, поглощенной загрязненными кукурузными зернами, а также водным раствором афлатоксина.
 ○ - концентрация афлатоксина в сухих зернах (влажность 4%);
 ◇ - концентрация афлатоксина во влажных зернах (26%);
 △ - концентрация афлатоксина в водном растворе;

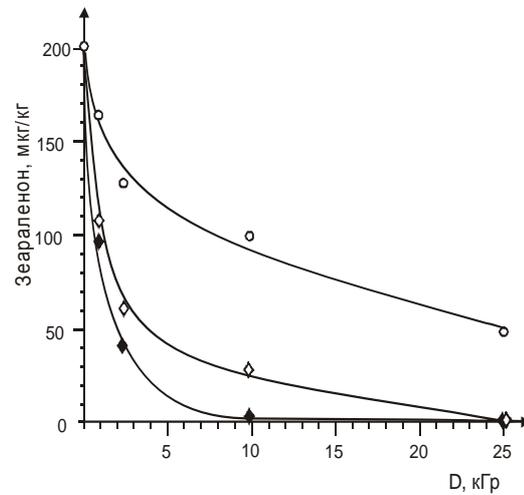


Рис. 2. Зависимость концентрации зеараленона от дозы ионизирующего излучения, поглощенной загрязненными кукурузными зернами, а также водным раствором зеараленона.
 ○ – концентрация зеараленона в сухих зернах (влажность 4%);
 ◇ – концентрация зеараленона во влажных зернах (26%);
 ◆ – концентрация зеараленона в водном растворе.

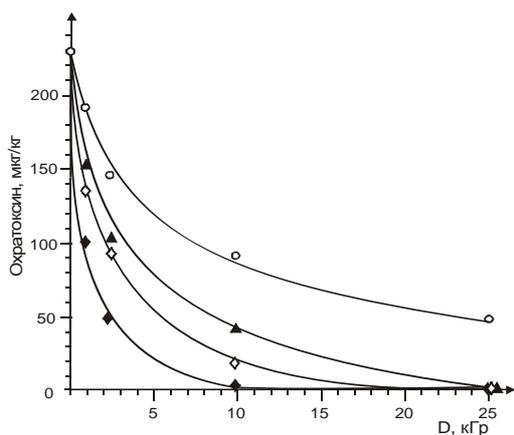


Рис. 3. Зависимость концентрации охратоксина от дозы, поглощенной загрязненными пшеничными зернами, а также водным раствором охратоксина.
 ○ - концентрация охратоксина в сухих зернах (влажность 4%);
 ▲ - концентрация охратоксина во влажных зернах (20%);
 ◇ - концентрация охратоксина во влажных зернах (26%);
 ◆ - концентрация охратоксина в водном растворе;

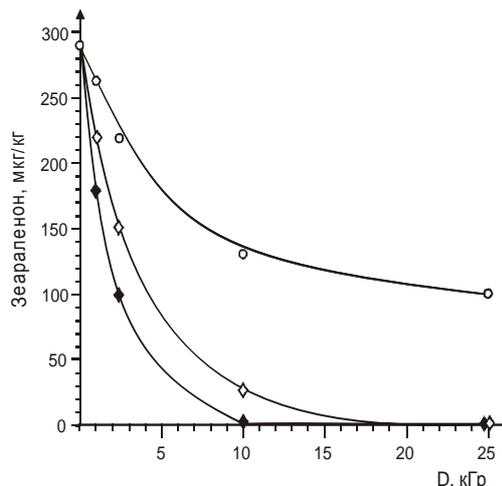


Рис. 4. Зависимость концентрации зеараленона от дозы ионизирующего излучения, поглощенной загрязненными зернами ячменя, а также водным раствором зеараленона.
 ○ - концентрация зеараленона в сухих зернах (влажность 4%);
 ◇ - концентрация зеараленона во влажных зернах (26%);
 ◆ - концентрация зеараленона в водном растворе.

Ниже приведена оценка значений радиационно-химических выходов разложения афлатоксина и зеараленона в кукурузных зернах и в водном растворе, охратоксина в пшеничных зернах и в водном растворе, а также зеараленона в зернах ячменя и в водном растворе:

- поглощенная доза ионизирующего излучения равная 1 кГр эквивалентна $6,241 \times 10^{21}$ эВ/кг;

- за время поглощения этой дозы (3000 сек.) концентрация афлатоксина (зеараленона) уменьшается на 2 (30) мкг/кг, 4 (90) мкг/кг и 5 (100) мкг/л соответственно, в сухих и влажных (26%) зернах кукурузы, и в водном растворе, что соответствует разложению $3,7 \times 10^{15}$ ($5,7 \times 10^{16}$), $7,4 \times 10^{15}$ ($17,1 \times 10^{16}$), $9,3 \times 10^{15}$ ($19,0 \times 10^{16}$) молекул афлатоксина (зеараленона) в 1 кг массы сухих, влажных (26%) кукурузных зерен и в 1 л водном растворе (относительная средняя молекулярная масса афлатоксина и зеараленона равны соответственно 325 и 316 г/моль);

- из вышеуказанных значений легко получить значения разложенных молекул афлатоксина и зеараленона при поглощении системами 100 эВ энергии ионизирующего излучения. Эти значения равны соответственно $3,7 \times 10^{15}$ молек/кг ($5,7 \times 10^{16}$) $\times 100$ эВ/ $6,241 \times 10^{21}$ эВ/кг = $0,6 \times 10^{-4}$ ($0,9 \times 10^{-3}$) молек/100эВ /значение радиационно-химического выхода разложения афлатоксина (зеараленона) в сухих зернах кукурузы/, $1,2 \times 10^{-4}$ ($2,7 \times 10^{-3}$) молек/100эВ, $1,5 \times 10^{-4}$ ($3,1 \times 10^{-3}$) молек/100эВ /значение радиационно-химического выхода разложения афлатоксина (зеараленона) в кукурузных зерна, с влажностью 26% и в водном растворе;

- за время поглощения 1 кГр дозы (3000 сек.) концентрация охратоксина уменьшается на 40 мкг/кг, 80 мкг/кг, 95 мкг/кг и 130 мкг/л соответственно, в сухих, влажных (20% и 26%) пшеничных зернах и в водном растворе, что соответствует разложению $0,6 \times 10^{17}$, $1,2 \times 10^{17}$, $1,4 \times 10^{17}$ и $2,0 \times 10^{17}$ молекул охратоксина в 1 кг массы сухих и влажных (20% и 26%) пшеничных зерен, и в 1 л водного раствора (относительная средняя молекулярная масса охратоксина равна 400 г/моль);

- из вышеуказанных значений можно вычислить значения разложенных молекул охратоксина при поглощении системами 100 эВ энергии ионизирующего излучения. Эти значения равны соответственно, $0,6 \times 10^{17}$ молек/кг $\times 100$ эВ/ $6,241 \times 10^{21}$ эВ/кг = $0,96 \times 10^{-3}$ молек/100эВ /значение радиационно-химического выхода разложения охратоксина в сухих пшеничных зернах/, $1,9 \times 10^{-3}$ молек/100эВ, $2,2 \times 10^{-3}$ молек/100эВ, $3,2 \times 10^{-3}$ молек/100эВ /значение радиационно-химического выхода разложения охратоксина в пшеничных зернах, с влажностью 20% и 26% соответственно, и в водном растворе/.

- за время поглощения 1 кГр дозы (3000 сек.) концентрация зеараленона уменьшается на 25 мкг/кг, 70 мкг/кг и 110 мкг/л соответственно, в сухих, влажных (26%) зернах ячменя и в водном растворе, что соответствует разложению $0,5 \times 10^{17}$, $1,3 \times 10^{17}$ и $2,1 \times 10^{17}$ молекул зеараленона в 1 кг массы сухих и влажных (26%) зерен ячменя, и в 1 л водного раствора;

- из вышеуказанных значений можно вычислить значения разложенных молекул зеараленона при поглощении системами 100 эВ энергии ионизирующего излучения. Эти значения равны соответственно, $0,5 \times 10^{17}$ молек/кг $\times 100$ эВ/ $6,241 \times 10^{21}$ эВ/кг = $0,8 \times 10^{-3}$ молек/100эВ /значение радиационно-химического выхода разложения зеараленона в сухих зернах ячменя/, $2,1 \times 10^{-3}$ молек/100эВ, $3,4 \times 10^{-3}$ молек/100эВ /значение радиационно-химического выхода разложения зеараленона в зернах ячменя с влажностью 26%, и в водном растворе/.

Из полученных значений видно, что с увеличением влажности зерен повышаются значения радиационно-химического выхода разложения микотоксинов. Значения радиационно-химического выхода разложения микотоксинов в водных растворах приблизительно в 2,5-4,2 раза превышает значение радиационно-химического выхода разложения этих микотоксинов в сухих зернах.

В табл. 1 показаны радиационно-химические выходы разложения микотоксинов в водном растворе и в зернах с различной влажностью.

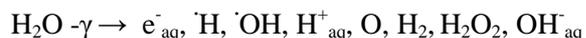
Таблица 1
Радиационно-химические выходы разложения микотоксинов в водных растворах и в зернах с различной влажностью

Влажность кукурузных зерен, загрязненных афлатоксином (9 мкг/кг)	4%	20%	26%	100% (водный раствор афлатоксина, 9 мкг/кг).
Радиационно-химический выход деструкции афлатоксина, (молек./100 эВ)	$0,6 \cdot 10^{-4}$	-	$1,2 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
Влажность кукурузных зерен, загрязненных зеараленоном (200 мкг/кг)	4%	20%	26%	100% (водный раствор зеараленона, 200 мкг/кг)
Радиационно-химический выход деструкции зеараленона, (молек./100 эВ)	$0,9 \cdot 10^{-3}$	-	$2,7 \cdot 10^{-3}$	$3,1 \cdot 10^{-3}$
Влажность пшеничных зерен, загрязненных охратоксином (230 мкг/кг)	4%	20%	26%	100% (водный раствор охратоксина, 230 мкг/кг).
Радиационно-химический выход деструкции охратоксина, (молек./100 эВ)	$0,96 \cdot 10^{-3}$	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$3,2 \cdot 10^{-3}$
Влажность зерен ячменя, загрязненных зеараленоном (290 мкг/кг)	4%	20%	26%	100% (водный раствор зеараленона, 290 мкг/кг)
Радиационно-химический выход деструкции зеараленона, (молек./100 эВ)	$0,8 \cdot 10^{-3}$	-	$2,1 \cdot 10^{-3}$	$3,4 \cdot 10^{-3}$

Для обсуждения и обоснования полученных результатов, необходимо пересмотреть все элементарные реакции и радиолитические процессы, протекающие при радиоллизе воды и углеводов. При физической стадии

радиолиза воды и углеводов (10^{-16} – 10^{-15} сек.) происходит образование ионов и электронов, возбужденных и сверхвозбужденных молекул, возбужденных ионов, а также ансамблей сверхвозбужденных молекул (плазмонов). В результате многократных столкновений с молекулами среды (воды или углеводов) образовавшиеся быстрые электроны при замедлении становятся тепловыми, в соответствующих средах гидратированными или сольватированными [15]. При физико-химической стадии радиолиза воды и углеводов (10^{-14} – 10^{-10} сек.) происходит диссоциация возбужденных и сверхвозбужденных молекул, их автоионизация и ион-молекулярные реакции.

В химической стадии радиолиза воды и углеводов (при временах 10^{-10} и выше) протекают реакции ионов, электронов, свободных радикалов, образовавшихся в шпорах, блобах и коротких треках, а также реакции этих частиц с молекулами среды. В этой стадии (при временах 10^{-7} сек.) происходит выравнивание концентрации продуктов радиолиза по всему объему. После завершения реакций в шпорах в воде, помимо ионов, свободно-радикальных продуктов воды (электронов, атомов и радикалов), наблюдаются также молекулярные продукты (молекулярный водород и перекись водорода). Поэтому, радиолиз воды выражают следующим уравнением [15]:



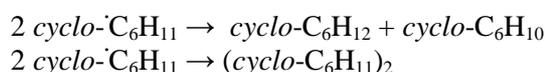
Основным первичным процессом взаимодействия ионизирующего излучения с углеводородами является ионизация. После ряда столкновений с молекулами среды быстрые электроны при замедлении захватываются молекулами воды, имеющихся в виде влаги, отдельных кластеров во всех растительных продуктах, то есть становятся гидратированными ($e^- \rightarrow e^-_{\text{aq}}$). Иногда электроны в процессе торможения не успевают уйти из сферы действия кулоновского поля ионов и в результате электронно-ионной рекомбинации возникают возбужденные молекулы. Возбужденные и сверхвозбужденные молекулы образуются и при взаимодействии ионизирующего излучения с углеводородами и с водой. Для сверхвозбужденных молекул характерны реакции автоионизации и диссоциации. Диссоциация сверхвозбужденных молекул протекает как с образованием радикалов, так и с образованием сравнительно малых молекул насыщенных и ненасыщенных углеводов. В случае алкенов и циклоалканов распад возбужденных молекул происходит по каналам образования пар: радикал и атом водорода, молекулярный водород и алкен, алкан и алкен, а также двух радикалов. Для ароматических углеводов эти процессы менее характерны. Для разветвленных углеводов возможны распад возбужденного иона на вторичные (осколочные) ионы. Эти вторичные ионы могут принимать участие в процессах парной нейтрализации, наряду с первичными ионами [15, 16].

При облучении нормальных алканов радикалы возникают в основном в результате разрыва связей C–H с образованием атомов водорода и радикалов. Атомы водорода присоединяются к олефинам, образуя алкильные радикалы.

Тепловые и «горячие» атомы водорода могут реагировать с исходными молекулами с отщеплением H, присоединяться к их бензольным кольцам и двойным связям, присоединяться к растворенному кислороду или же димеризоваться, образуя молекулярный водород.

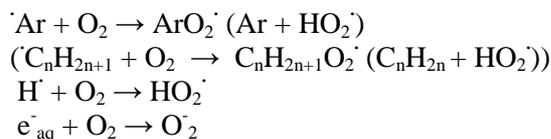
При облучении разветвленных углеводородов разрыв C–C связей становится более существенным, в результате чего образуются различные алкильные радикалы. Радиационно-химический выход образования свободных радикалов при радиолитическом разложении алканов в зависимости от молекулярной массы меняется в пределах 0,27–5,70. Алкильные радикалы могут вступать в реакцию рекомбинации или реагировать с алкильными радикалами. Алкильные радикалы в свою очередь могут присоединяться к двойным связям, димеризоваться или вступать в реакцию диспропорционирования [15, 16].

Наиболее распространенными реакциями алкильных и циклоалкильных радикалов являются диспропорционирование и димеризация. Например, для циклогексильных радикалов характерны реакции образования циклогексана, циклогексена, а также дициклогексила:

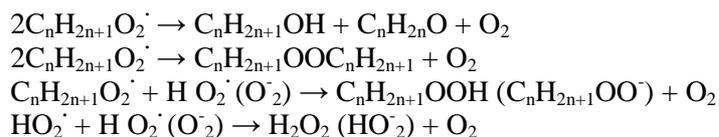


Другой реакцией алкильных радикалов является взаимодействие с растворенным кислородом.

В изучаемых нами реальных системах – в водных растворах, в остаточной влаге растительных продуктов всегда присутствует определенное количество растворенного кислорода, которое вступает в реакции с алкильными радикалами, с атомами водорода и гидратированными электронами [15, 16]:

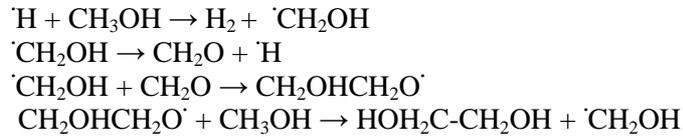


Образованные в этих реакциях радикалы взаимодействуют между собой:



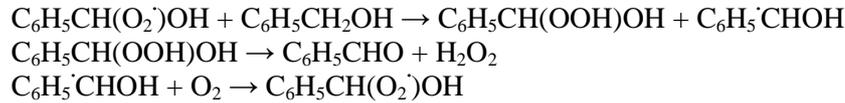
В естественных условиях из-за присутствия растворенного кислорода в воде или во влажной структуре растительных продуктов и присутствия в молекулах микотоксинов гидроксильных групп, механизм радиолитического разложения микотоксинов в водных растворах и во влажных продуктах растениеводства подобен радиолитическому разложению спиртов в присутствии растворенного кислорода. Продукты этих процессов также относятся к идентичным классам органических веществ.

При радиоллизе спиртов, не содержащих молекулярный кислород, образуются гликоли, эфиры, альдегиды, водород и моноокись углерода, алканы, вода. Процесс образования этиленгликоля из метанола описывается реакциями:



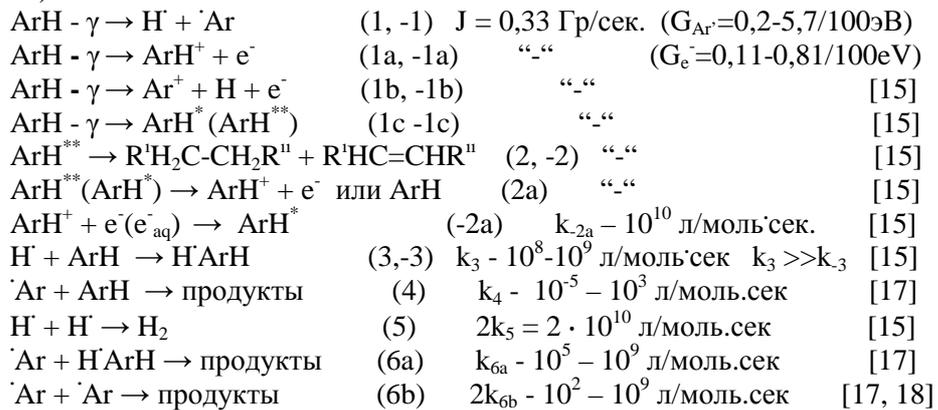
В присутствии кислорода димеризация и диспропорционирование гидроксильных радикалов спиртов подавляются и гликоли не образуются. Уменьшается образование водорода и осколочных углеводов. В реакциях же перекисных радикалов, $\text{HO}\cdot_2$, $\text{O}\cdot_2$ образуются карбонильные соединения (альдегиды, эфиры), кислоты, перекись водорода, органические перекиси, являющимися продуктами окисления.

Суммарный выход продуктов окисления при радиоллизе бензилового спирта в присутствии кислорода, достигает 50 молек./100эВ. Цепной процесс протекает за счет реакций [15, 16]:



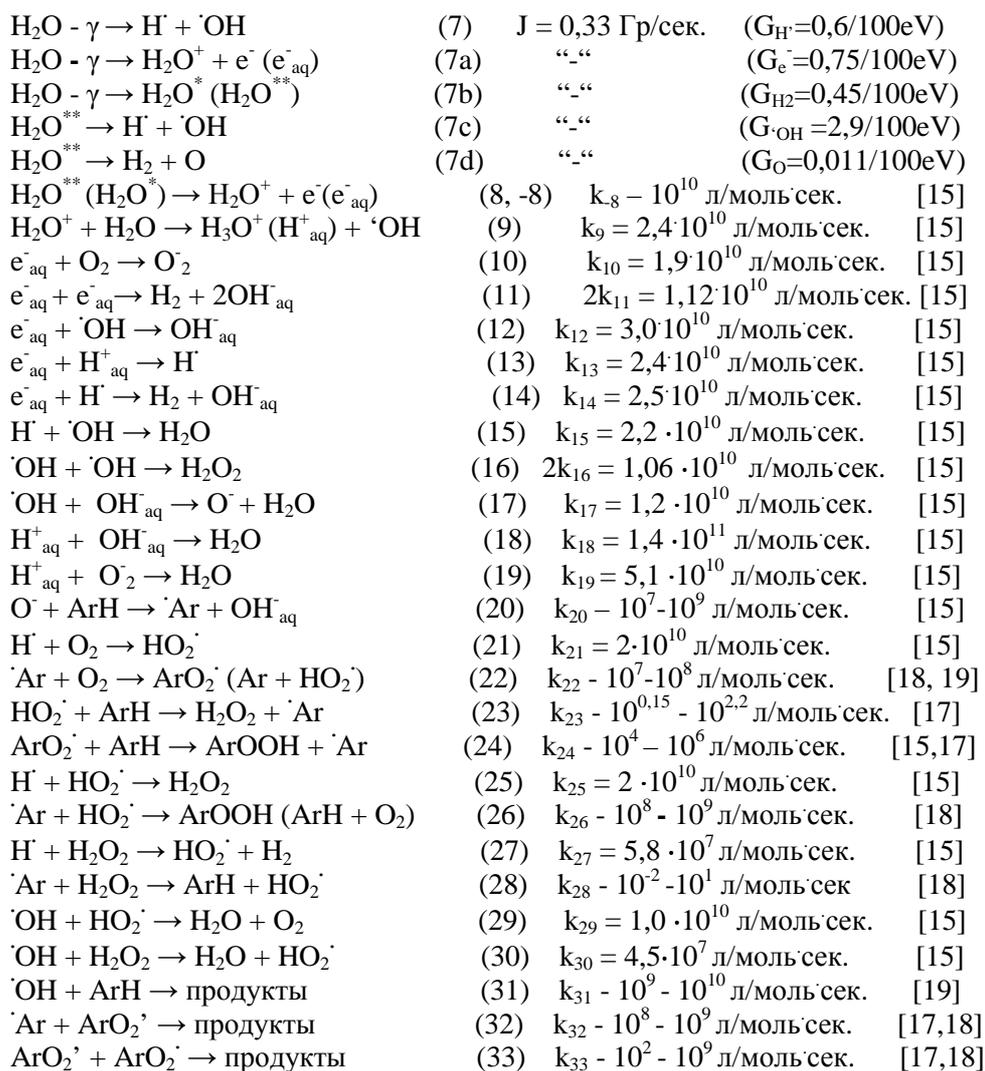
Продуктами радиоллиза пропанола-1 в присутствии кислорода, являются формальдегид, пропионовый альдегид, этилен, водород и пропионовая кислота. Суммарный выход этих продуктов окисления составляет 20 молек./100 эВ [16].

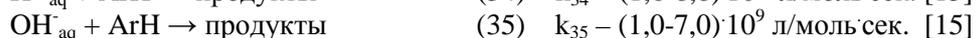
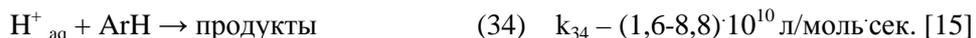
С учетом термодинамических характеристик и кинетических закономерностей реакций, протекающих между макрорадикалами микотоксинов, а также реакций атомов водорода с молекулами микотоксинов, их радиоллиз можно представить системой нижеуказанных элементарных стадий (Mt или ArH – микотоксины, J – мощность поглощенной в облучаемых объектах дозы – 0,33 Гр/сек.):



Низкие значения степеней и скоростей деструкции микотоксинов в сухих зернах по сравнению с этими значениями для водных растворов микотоксинов объясняются низким значением константы скорости реакции 4 и низкими скоростями реакций ба и бб, имеющих низкие концентрации реакционных компонентов.

Процесс радиолитического разложения водных растворов микотоксинов является более сложным и многоступенчатым процессом. При радиолитическом разложении этих растворов, помимо образования ион-электронных пар и разрыва связей Н-Р, Р-Р природных микотоксинов, то есть помимо вышеуказанного механизма, молекулы воды также разлагаются на электронно-ионные пары, на атомы водорода, кислорода, гидроксильные группы, а также протекают реакции этих частиц с растворенным кислородом:





При радиолитическом разложении полностью высушенных зерен протекают реакции 1–6. Как видно из этого механизма, деструкция микотоксинов в сухих зернах пропорциональна поглощенной в зернах дозе ионизирующего излучения. Разложение микотоксинов при радиолитическом разложении сухих зерен определяется реакциями соединения и диспропорционирования 3, 4, 6а и 6б. Согласно литературным данным [15, 16], основными каналами протекания реакций 6а и 6б являются реакции диспропорционирования, то есть распад молекул микотоксинов, являющихся полициклическими ненасыщенными органическими соединениями.

Механизм процесса радиолитического разложения микотоксинов в водных растворах состоит из системы элементарных реакций 1–35. С учетом значений констант скоростей и концентраций компонентов реакций, можно выяснить, что элементарные реакции 25–30 играют незначительную роль в начальных стадиях протекания общего процесса. Из механизма радиолитического разложения водных растворов микотоксинов ясно видно, что деструкция микотоксинов определяется в основном реакциями электронов и ионов, а также атомов и радикалов, образованных при радиолитическом разложении молекул углеводов, микотоксинов и воды, а также их реакциями с растворенным кислородом. Поэтому радиолитическое разложение водных растворов микотоксинов характеризуется более высокой скоростью и радиационно-химическим выходом по сравнению с их радиолитической деструкцией в сухих зернах. Деструкция микотоксинов в водных растворах определяется реакциями 3, 4, 6а, 6б, 21–24, 31–35. По ходу протекания реакций 6а, 6б, 32 и 33, помимо димеризации, существенную роль играют и каналы диспропорционирования [15]. Реакции 24 и 26 сопровождаются образованием органических кислот, в реакциях же 32 и 33 образуются альдегиды и сложные эфиры.

В растительных продуктах, зернах и фруктах, содержащих водные кластеры и определенное количество влаги, процесс радиолитического разложения микотоксинов регулируется реакциями обоих вышеуказанных механизмов.

Этот вывод подтверждается тем, что при всех экспериментах радиационно-химические выходы радиолитической деструкции микотоксинов в водных растворах на 2–4 раза выше, чем в реальных системах. Фактически всегда из-за присутствия в зернах определенной остаточной влаги или же из-за большой увлажненности зерен, сохраненных во влажных условиях, процессы радиолитической стерилизации и детоксикации регулируются элементарными реакциями обоих вышеуказанных механизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В проведенных экспериментах по радиолитической деструкции микотоксинов в высушенных зернах наблюдается выделение в незначительных количествах легких углеводов, спиртов и водорода.

2. При облучении водных растворов микотоксинов, а также влажных растительных продуктов, загрязненных микотоксинами наблюдается образование в следовых количествах гидропероксидов, неканцерогенных жирных кислот, их сложных эфиров и альдегидов, что согласуется с предложенным механизмом радиолитического разложения.
3. Наблюдаемые небольшие значения выходов реакций радиационно-химического разложения микотоксинов, вполне достаточны для обеспечения детоксикации зерен, загрязненных микотоксинами, и снижения концентрации этих микотоксинов до значений ниже ПДК.
4. Радиолитический метод детоксикации по достигнутой высокой степени деструкции микотоксинов превосходит все традиционные методы детоксикации.

Список литературы

1. Пищевая химия. / [А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др.]. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2007. – 635 с.
2. О причинах массовых микотоксикозов животных / А.В. Иванов, М.Я. Трemasов, К.Х. Папуниди [и др.] // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. – 2010. – № 1. – С. 192–196.
3. Монастырский О.А. Современное состояние и проблемы исследования токсикогенных грибов, поражающих злаковые культуры / О.А. Монастырский // Актуальные вопросы биологизации защиты растений. – Пушкино: ВНИИБЗР, 2000. – С. 79–89.
4. Биохимические и токсикологические особенности микотоксинов, продуцируемых грибами-патогенами озимой пшеницы / Г.В. Грушко, С.Н. Линченко, В.В. Хан // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 8. – С.74–78.
5. Кравченко Л.В. Микотоксины как природные контаминанты пищевых продуктов и кормов / Л.В. Кравченко. – М.: Медицина, 1985. – С.7–28.
6. IAEA-TECDOC-1337. Radiation processing for safe, shelf-stable and ready-to-eat food: proceedings of a final research coordination meeting held in Montreal, Canada, 10–14 July 2000. Printed by the IAEA in Austria.–2003. – 37 p.
7. Афанасьев В.А. Научно-практические основы тепловой обработки зерновых компонентов и технологии комбикормов: Дисс. д.т.н. / В.А. Афанасьев. – Московский государственный университет пищевых продуктов. – М. – 2003. – 517 с.
8. Использование биопрепаратов для обезвреживания кормов от микотоксинов / Е.Н. Иванов, Л.Е. Матросова, И.М. Еремеев, Ю.М. Трemasов // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. – 2010. - №1. – С. 193-195.
9. Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review / J. He, T. Zhou, J.C.Young, G.J. Boland / Trends in food science and technology – 2010. – Vol. 21, № 2. – P.67–71.
10. Duarte S.C. A review on ochratoxin a occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products/ S.C. Duarte, A. Pena, C.M. Lino // Food Microbiology. – 2010. – Vol.27. – P. 187-198.
11. Coker R. D. Apparatus and method for detection and measurement of target compounds such as a food toxin / R.D. Coker, J. Tetteh, M.P. Andreou // European Patent Application. – 2008. – Vol. 2 – P. 198–274.
12. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of deoxynivalenol in wheat and maize // Y. Xu, Z.B. Huang, Q.H. He [et al.] // Food Chem. – 2010. – Vol. 119. – P. 834–837.
13. Peter E. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of loose smut of barley (*Ustilago nuda*) / E. Peter, W. Gerhard, K. Eckhard // European journal of plant pathology. – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 113–124.
14. Мамедов Х.Ф. Радиолитическое разложение охратоксина в кукурузных зернах / Х.Ф. Мамедов // Естественные и технические науки – 2012. – № 2. – С. 76–79.

15. Пикаев А.К. Современная радиационная химия. Радиолит газы и жидкостей / А.К. Пикаев. – М.:Наука, 1986. – 440 с.
16. Романцев М.Ф. Радиационное окисление органических веществ / М.Ф. Романцев, В.А. Ларин. – М.: Атомиздат, 1972. – 156 с.
17. Могилевич М.М. Окисление и окислительная полимеризация непредельных соединений / М.М. Могилевич, Е.М. Плис. – М.:Химия, 1990. – 242 с.
18. Neta P. Rate constant for reactions of phenoxyl radicals in solution / P. Neta, J. Grodkowski // J. Phys. Chem. Ref. Data. – 2005. – Vol. 34, №.1. – P.109–199.
19. Пискарев И.М. Очистка воды в открытых водоемах за счет цепных реакций, инициированных гидроксильными радикалами / И.М. Пискарев. М.: МГУ-НИИЯФ, 2004, – 7 с.

Мамедов Х.Ф. Радиолітичні процеси в вологих зернах кукурудзи, пшениці та ячменю / Х.Ф. Мамедов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 226-238.

Вивчено кінетичні закономірності радіолітичного розкладу мікотоксинів у водних розчинах, в сухому та вологому насінні кукурудзи, пшениці, ячменю. Визначено радіаційно-хімічні виходи розкладу мікотоксинів у цих системах. Встановлено, що швидкість радіолітичної деструкції мікотоксинів зростає при збільшенні вологості насіння. Запропоновані механізми радіолітичної деструкції мікотоксинів у водних розчинах та насінні.

Ключові слова: радіолітична деструкція мікотоксинів, зеараленон, охратоксин, афлатоксин.

Mamedov Kh. F. Radiolytic processes in damp corn, wheat and barley grains / Kh.F. Mamedov // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 226-238.

The kinetic regularities of radiolytic decomposition of mycotoxins in water solutions, in dry and damp corn, wheat and barley grains have been studied. Radiation-chemical yields of decomposition of mycotoxins are defined for these systems. It was found that the increase in grains' humidity leads mycotoxins' destruction to increase. Mechanisms of mycotoxins' radiolytic destruction in water solutions and in grains are offered.

Keywords: radiolytic destruction of mycotoxins, zearalenon, ochratoxin, aflatoxin.

Поступила в редакцію 28.05.2013 г.

УДК 548.736+546.665+54.057

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ БИЯДЕРНОГО КОМПЛЕКСА НИТРАТА ГОЛЬМИЯ(III) С 4,4,10,10-ТЕТРАМЕТИЛ-1,3,7,9-ТЕТРААЗОСПИРО[5.5]УНДЕКАН-2,8- ДИОНОМ

Нетреба Е.Е.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: evgtnu@gmail.com*

Впервые синтезирован биядерный комплекс нитрата гольмия(III) $[\text{Ho}(\text{NO}_3)_3(\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})_2]_2$ (I) и определена его структура. Кристаллы (I) моноклинные: пр. гр. $P2_1/c$, $a=6,4284(3)$, $b=23,2266(10)$, $c=13,7641(4)\text{\AA}$, $\beta=98,363(4)^\circ$, $V=2033,25(14)\text{\AA}^3$, $d_{\text{выч}}=1,99\text{ г/см}^3$, $Z=2$. Атом гольмия координирован двумя атомами кислорода двух молекул лиганда, связанных операцией симметрии $[1-x, -y, 1-z]$, тремя бидентантными нитрат-анионами и молекулой воды. Координационное число празеодима равно 9 координационный полиэдр представляет собою значительно искаженную трюхшапочную тригональную призму. Расстояние $\text{Ho}\dots\text{Ho}$ в комплексе составляет $9,34\text{\AA}$.

Ключевые слова. гольмий(III), спирокарбон, биядерный комплекс, структура, PCA.

ВВЕДЕНИЕ

Бидерные бисмочевинны или ББМ изучаются с 70х годов XX века. Интерес к этому классу гетероциклических систем вызван, прежде всего, широкими возможностями их использования в фармации, сельском хозяйстве, химии [1].

На данный момент времени получены и описаны комплексы ББМ меликара (Mb) или 2,4,6,8-тетраметил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3,3,0]октандиона-3,7, состава: $[\text{Co}(\text{Mb})_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{Br}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Ni}(\text{Mb})_2(\text{H}_2\text{O})_2\text{Br}_2]$, $[\text{NiMb}(\text{H}_2\text{O})_4](\text{NO}_3)_2$, и $[\text{Cu}_2(\text{Mb})_3\text{Br}_4]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdCl}_2\cdot \text{Mb}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{ Mb}\cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2\cdot 2\text{ Mb}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot \text{Mb}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdX}_2\cdot \text{Mb}$ ($X = \text{Br}, \text{I}, \text{NCS}$), $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2\cdot 1,5\text{Mb}\cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnCl}_2\cdot \text{Mb}$, $\text{ZnI}_2\cdot \text{Mb}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 2\text{Mb}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\cdot 0,5\text{Mb}$ [2–3]. Полученные соединения охарактеризованы по данным элементного анализа, ИК-спектроскопии и КР-спектроскопии. Доказано, что координирование Mb происходит через атомы кислорода мочевиных фрагментов, что подтверждается понижением частоты амид-I и повышением частоты деформационных колебаний NMe-групп.

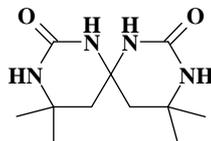
Так же получены и охарактеризованы комплексы с ББМ альбикаром (Ab) или 2,6-диэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]октан-3,7-дионом [4]: $\text{MAb}_n\text{X}_2(\text{H}_2\text{O})_m$, где $\text{M}=\text{Mg}, \text{Ca}, \text{Sr}, \text{Ba}$; $\text{X}=\text{Cl}^-, \text{NO}_3^-$; $n=1-3$; $m=0$ или 2. Комплексы охарактеризованы по данным элементного анализа, ИК- и КР-спектроскопии. Координирование Ab происходит через атом кислорода мочевиного фрагмента. Получены и

охарактеризованы комплексы альбикара с солями Zn и Cd [5–7]: $ZnAbX_2 \cdot H_2O$, где $X=Cl, I, SCN$ и $CdAb(NO_3)_2$.

Структурно охарактеризован комплекс LiBr с Ab [8], кристаллы centrosymmetric биядерного комплекса $[Li_2(\mu-Ab)_2(H_2O)_4]Br_2$ триклинные, пространственная группа $P\bar{1}$, $a=8,823(2)$, $b=8,819(2)$, $c=11,311(2)\text{Å}$, $\alpha=96,25(2)$, $\beta=111,36(1)$, $\gamma=101,21(2)^\circ$, $Z=2$.

Авторы работы [9] предлагают синтез комплекса нитрата кадмия с ББМ бикарэтом (Bk) или 2,4,6,8-тетраэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]октан-3,7-дионом. Определена кристаллическая структура centrosymmetric биядерного комплекса $[Cd_2(\mu-Bk)_2(NO_3)_4(EtOH)_2]$, кристаллы построены из димерных молекул. Координационный полиэдр атома кадмия – тригональная бипирамида. Bk – бидентатно-мостиковый лиганд, координирующий с кадмием через атомы кислорода карбонильных групп. Кристаллы $[Cd_2(\mu-Bk)_2(NO_3)_4(EtOH)_2]$ триклинные, пространственная группа $P\bar{1}$, $a=9,939(1)$, $b=10,589(1)$, $c=11,956(1)\text{Å}$, $\alpha=87,145(2)$, $\beta=66,450(2)$, $\gamma=74,389(2)^\circ$, $V=1108,6(2)\text{Å}^3$.

Последнее время одна из ББМ спирокарбон (Sk) или 4,4,10,10-тетраметил-1,3,7,9-тетраазоспиро[5.5]ундекан-2,8-дион вызывает интерес у исследователей различных сфер:



Спирокарбон обладает рядом ценных биологических свойств [10–18]: низким уровнем токсичности, $LD_{50}=3000$ мг/кг массы белых мышей, мембранотропностью, способность проходить и накапливаться в цитоплазме лейкозных клеток линий L1210 и SEM-T4 мыши и человека соответственно, также способностью повышать количества белка и снижать крахмалистость в зерне овса, стимулировать каллюсообразование и корнеобразование у растений. В работе [19] показана эффективность применения спирокарбона как стимулятора роста и развития в овцеводстве.

В литературе приводятся синтезы координационных соединений спирокарбона: $MgCl_2 \cdot Sk$, $MgSO_4 \cdot Sk$, $CaCl_2 \cdot Sk$ [20]. Авторами работы [21] изучается комплексообразование спирокарбона с получением комплексов $LiI \cdot Sk \cdot H_2O$, $ZnCl_2 \cdot Sk$, $NbCl_5 \cdot Sk \cdot 2H_2O \cdot (CH_3)_2CO$

Имеющаяся информация о комплексных соединениях спирокарбона противоречива и не достоверна, комплексы не охарактеризованы современными методами исследования, отсутствует структурная информация, отсутствует рентгенофазовый анализ порошков полученных веществ.

Поэтому получение и изучения координационных соединений данного лиганда, как жесткого основания Льюиса, пояснит более полно химизм взаимодействия Sk с ионами металлов различных групп и подгрупп Периодической системы химических элементов.

Цель настоящей работы – получение координационного соединения нитрата гольмия(III) с спирокарбоном и определение его структуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез I. Для получения **I** использовали пентагидрат нитрата гольмия(III) $\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ («х.ч.»), Sk, полученный по методике [22] и ацетон («ос.ч.»). Для этого 2,32г (5,3ммоль) нитрата гольмия растворяли в 20мл ацетона, затем вносили 1,20г (4,7ммоль) спирокарбона и 5–10 минут перемешивали на магнитной мешалке. Полученный раствор фильтровали, и выдерживали в закупоренном стаканчике до формирования кристаллов. Выделившиеся кристаллы бледно-розового цвета отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили на воздухе. Выход по лиганду ~ 59%.

Элементный анализ проведен на элементном анализаторе EA-3000 фирмы EuroVector (Италия). Для $[\text{Ho}(\text{NO}_3)_3(\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})_2]$ найдено, %: С 21,67; Н 3,66; N 16,08; вычислено, % С 21,69; Н 3,64; N 16,09.

ИК спектры лиганда и синтезированного **I** записывали в таблетках KBr на Фурье ИК-спектрофотометре SPECTRUM ONE (PerkinElmer) в области 400–4000 cm^{-1} .

РСА. Экспериментальный материал для кристалла **I** получен на автоматическом четырехкружном дифрактометре «Xcalibur 3». Структура расшифрована прямым методом по комплексу программ SHELX-97 [23]. Положения атомов водорода рассчитаны геометрически и уточнены по модели наездника с $U_{\text{изо}}=nU_{\text{эkv}}$ несущего атома ($n=1,5$ для воды и метильных групп, $n=1,2$ для остальных атомов водорода). Структура уточнена полноматричным МНК в анизотропном приближении для неводородных атомов по F^2 .

Основные характеристики эксперимента и параметры элементарной ячейки кристалла **I** при 293(2)К следующие: эмпирическая формула – $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{N}_{14}\text{O}_{24}\text{Ho}_2$; $M=1218,57$; $\lambda=0,71073\text{\AA}$ (MoK α); кристаллы моноклинные, пространственная группа $P2_1/c$; $a=6,4284(3)$; $b=23,2266(10)$; $c=13,7641(4)\text{\AA}$; $\beta=98,363(4)^\circ$; $V=2033,25(14)\text{\AA}^3$; $Z=2$; $d_{\text{ввч}}=1,99\text{ г/см}^3$; $\mu(\text{MoK}\alpha)=3,968\text{ мм}^{-1}$; $F(000)=1200$; размер кристалла, мм – $0,06 \times 0,07 \times 0,23$; область углов θ – $2,99\text{--}32,49^\circ$; $2\theta_{\text{max}}=64,98^\circ$; интервалы индексов отражений $-9 \leq h \leq 9$, $-35 \leq k \leq 34$, $-20 \leq l \leq 19$; число измеренных рефлексов – 34503; число независимых рефлексов – 6886; $R_{\text{int}}=0,0415$; число рефлексов с $I > 2\sigma(I)$ – 5334; число уточняемых переменных – 285; R–фактор ($I > 2\sigma(I)$): $R_1=0,0275$, $wR_2=0,0446$; R–фактор по всем отражениям: $R_1=0,0487$, $wR_2=0,0492$; GOOF по F^2 – 1,042; $\Delta\rho_{\text{max}}=0,829\text{ e}\text{\AA}^{-3}$; $\Delta\rho_{\text{min}}=-0,646\text{ e}\text{\AA}^{-3}$. Координаты атомов и другие параметры структуры **I** депонированы в Кембриджском банке структурных данных (CCDC 924467; deposit@ccdc.cam.ac.uk или http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif).

РФА. Для подтверждения чистоты синтезированного образца **I** проведено уточнение по методу Ритвельда порошковой рентгенограммы, дифрактометр Siemens D500, Си-излучение, графитовый монохроматор на вторичном пучке с использованием результатов монокристалльного РСА в качестве исходной модели

для программы FullProf [24]. Для этого образец **I** после растирования помещали в стеклянную кювету с рабочим объемом $2 \times 1 \times 0,1 \text{ см}^3$ для регистрации дифрактограммы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На ИК-спектрах соединения **I** и молекул Sk наблюдаются следующие характеристические полосы:

для спирокарбона, ($\bar{\nu}$, см^{-1}): 3416 (Н–О□Н); 3335, 3293, 3218 (N–H); 3075, 2991, 2978, 2932 (C–C, C–H); 1653 (–NH–C=O, амид-I); 1418 (C–NH).

для **I** ($\bar{\nu}$, см^{-1}): 3749 (Н–О□Н) [25]; 3382, 3361 (N–H); 3007, 2979, 2935, 2886 (C–C, C–H); 1651 (–NH–C=O, амид-I); 1408 (C–NH); 1386, 1256, 1035, 814 [26–28] (NO_3^-); 542 [26] ($\text{Ho} \leftarrow \text{O}=\text{C}$).

При сравнении валентных колебаний $\nu(-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$, амид-I) Sk и **I** наблюдается смещение на 2 см^{-1} в дальнюю область из-за координирования молекулы Sk, а также смещение в ближнюю область $\nu_s(\text{N}-\text{H})$, $\nu_{\text{as}}(\text{N}-\text{H})$ с 3335, 3293 и 3218 см^{-1} до 3382, 3361 см^{-1} , что характерно для аминогрупп при координированном карбониле мочевиного фрагмента [29]. На спектре наблюдается полоса поглощения при 3749 см^{-1} , соответствующая валентному колебанию координированной воды. Также присутствуют линии при 1386, 1256, 1035, 814 см^{-1} координированных по бидентатно-хелатному типу нитрат-анионов.

По данным РСА соединение **I** представляет собой биядерные комплексы состава $[\text{Ho}(\text{NO}_3)_3(\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})_2]_2$, которые находятся в кристалле в частном положении на центре инверсии. Атом гольмия координирован двумя атомами кислорода O(1) и O(2) двух молекул лиганда, связанных между собой операцией симметрии [1-x, -y, 1-z], тремя бидентатными нитрат-анионами и молекулой воды. Координационное число Ho равно 9, координационный полиэдр представляет собой значительно искаженную трехшапочную тригональную призму в основаниях которой лежат атомы O(1), O(2), O(12) и O(3), O(7), O(9). Угол между основаниями призмы составляет 16° , а между средними плоскостями боковых граней $55-70^\circ$. Расстояние Ho...Ho в комплексе составляет $9,34 \text{ \AA}$. Шестичленные гетероциклы находятся в конформации конверт с отклонением атомов C(3) и C(9) от плоскостей остальных атомов цикла на $-0,513(3) \text{ \AA}$ и $-0,517(4) \text{ \AA}$, соответственно. В такой конформации цикла возникают укороченные внутримолекулярные контакты Н(3b)...Н(10a) $2,21$ и Н(5a)...Н(9a) $2,17 \text{ \AA}$ (сумма ван-дер-ваальсовых радиусов $2,32 \text{ \AA}$ [30]), (рис. 1, табл. 1).

Внутри комплекса образована межмолекулярная водородная связь N(1)–Н(1)...O(4) (Н...О $2,42 \text{ \AA}$, N–Н...О 135°). Между собой комплексы и координированные нитрат анионы связаны в слои параллельные плоскости (0 1 0) за счет множественных межмолекулярных водородных связей O(12)–Н(12a)...O(11)ⁱ [i: 1-x, 1-y, 2-z] (Н...О $1,97 \text{ \AA}$, O–Н...О 169°), O(12)–Н(12b)...O(7)ⁱⁱ [ii: 1+x, y, z] (Н...О $2,06 \text{ \AA}$, O–Н...О 170°), N(2)–Н(2)...O(8)ⁱⁱⁱ (Н...О $2,33 \text{ \AA}$, N–Н...О 154°), N(3)–Н(3)...O(5)ⁱⁱⁱ (Н...О $2,23 \text{ \AA}$, N–Н...О 163°) и N(4)–Н(4)...O(11)ⁱⁱⁱ [iii: x, y, -1+z] (Н...О $2,21 \text{ \AA}$, N–Н...О 172°) (рис. 2).

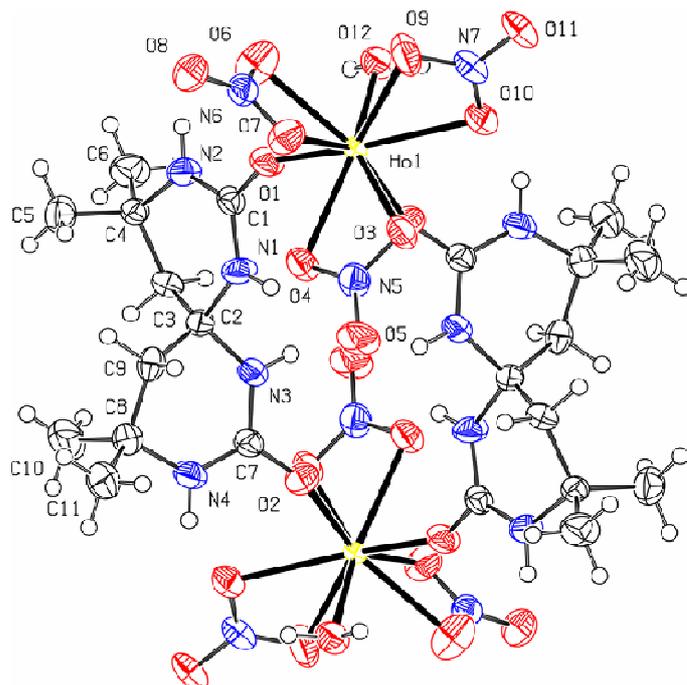


Рис. 1. Строение соединения **I** по данным рентгеноструктурного исследования.

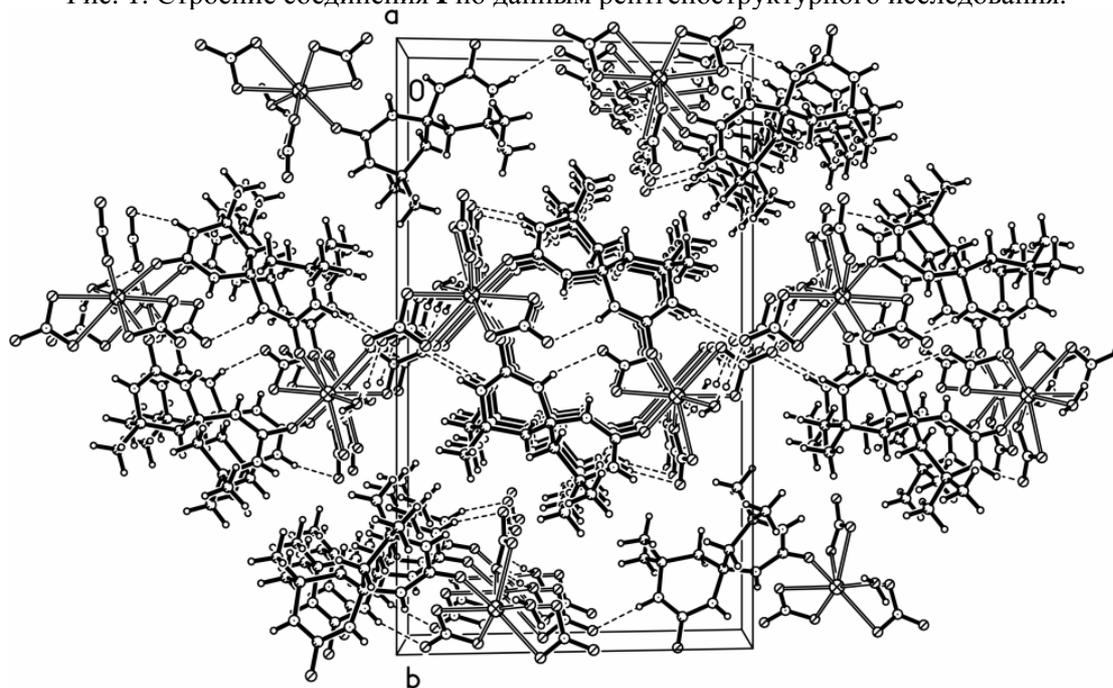


Рис. 2. Общий вид структуры **I**.

Таблица 1

Длины связей (Å) и валентные углы (град.) в структуре I*

Угол	о, град	Угол	о, град	Угол	о, град	Связь	d, Å
O(1)Ho(1)O(3)	127,81(6)	O(9)Ho(1)O(7)	70,92(7)	O(8)N(6)O(6)	122,6(2)	Ho(1)–O(1)	2,2453(17)
O(1)Ho(1)O(4)	76,53(6)	O(9)Ho(1)O(10)	51,13(6)	O(8)N(6)O(7)	121,5(2)	Ho(1)–O(2) ⁱ	2,2264(18)
O(1)Ho(1)O(6)	70,71(7)	O(9)Ho(1)N(5)	112,58(8)	O(9)N(7)Ho(1)	57,71(12)	Ho(1)–O(3)	2,4128(18)
O(1)Ho(1)O(7)	100,80(7)	O(9)Ho(1)N(6)	72,26(6)	O(10)N(7)Ho(1)	58,62(12)	Ho(1)–O(4)	2,4831(18)
O(1)Ho(1)O(9)	138,27(7)	O(9)Ho(1)N(7)	25,67(6)	O(10)N(7)O(9)	116,3(2)	Ho(1)–O(6)	2,516(2)
O(1)Ho(1)O(10)	145,79(7)	O(10)Ho(1)O(4)	123,46(6)	O(11)N(7)Ho(1)	178,18(19)	Ho(1)–O(7)	2,4621(18)
O(1)Ho(1)O(12)	75,55(6)	O(10)Ho(1)O(6)	122,97(7)	O(11)N(7)O(9)	121,2(2)	Ho(1)–O(9)	2,4594(19)
O(1)Ho(1)N(5)	102,08(6)	O(10)Ho(1)N(5)	98,42(6)	O(11)N(7)O(10)	122,5(2)	Ho(1)–O(10)	2,4806(18)
O(1)Ho(1)N(6)	83,80(7)	O(10)Ho(1)N(6)	122,31(6)	O(1)C(1)N(1)	120,4(2)	Ho(1)–O(12)	2,3601(17)
O(1)Ho(1)N(7)	150,30(6)	O(10)Ho(1)N(7)	25,46(6)	O(1)C(1)N(2)	120,0(2)	Ho(1)–N(5)	2,865(2)
O(2) ⁱ Ho(1)O(1)	81,79(7)	O(12)Ho(1)O(3)	148,43(6)	N(2)C(1)N(1)	119,6(2)	Ho(1)–N(6)	2,910(2)
O(2) ⁱ Ho(1)O(3)	78,76(7)	O(12)Ho(1)O(4)	148,57(6)	N(1)C(2)C(3)	107,59(19)	Ho(1)–N(7)	2,890(2)
O(2) ⁱ Ho(1)O(4)	76,72(6)	O(12)Ho(1)O(6)	81,88(7)	N(1)C(2)C(9)	107,4(2)	O(1)–C(1)	1,259(3)
O(2) ⁱ Ho(1)O(6)	151,77(7)	O(12)Ho(1)O(7)	128,61(6)	N(3)C(2)N(1)	106,75(19)	O(2)–Ho(1) ⁱ	2,2265(17)
O(2) ⁱ Ho(1)O(7)	145,84(6)	O(12)Ho(1)O(9)	78,88(8)	N(3)C(2)C(3)	107,5(2)	O(2)–C(7)	1,255(3)
O(2) ⁱ Ho(1)O(9)	128,30(7)	O(12)Ho(1)O(10)	75,95(6)	N(3)C(2)C(9)	107,29(19)	O(3)–N(5)	1,265(3)
O(2) ⁱ Ho(1)O(10)	77,38(7)	O(12)Ho(1)N(5)	160,33(7)	C(9)C(2)C(3)	119,7(2)	O(4)–N(5)	1,264(3)
O(2) ⁱ Ho(1)N(12)	85,27(7)	O(12)Ho(1)N(6)	106,06(7)	C(4)C(3)C(2)	117,0(2)	O(5)–N(5)	1,219(3)
O(2) ⁱ Ho(1)N(5)	75,08(7)	O(12)Ho(1)N(7)	75,61(6)	N(2)C(4)C(3)	107,59(19)	O(6)–N(6)	1,242(3)
O(2) ⁱ Ho(1)N(6)	158,82(6)	N(5)Ho(1)N(6)	92,94(6)	N(2)C(4)C(5)	109,0(2)	O(7)–N(6)	1,260(3)
O(2) ⁱ Ho(1)N(7)	102,71(7)	N(5)Ho(1)N(7)	107,46(6)	N(2)C(4)C(6)	107,9(2)	O(8)–N(6)	1,224(3)
O(3)Ho(1)O(4)	52,03(6)	N(7)Ho(1)N(6)	97,50(6)	C(3)C(4)C(5)	114,1(2)	O(9)–N(7)	1,260(3)
O(3)Ho(1)O(6)	123,28(7)	C(1)O(1)Ho(1)	150,35(17)	C(3)C(4)C(6)	108,2(2)	O(10)–N(7)	1,249(3)
O(3)Ho(1)O(7)	72,87(7)	C(7)O(2)Ho(1) ⁱ	155,28(18)	C(5)C(4)C(6)	109,9(2)	O(11)–N(7)	1,226(3)
O(3)Ho(1)O(9)	89,88(8)	N(5)O(3)Ho(1)	97,40(14)	O(2)C(7)N(3)	118,7(2)	N(1)–C(1)	1,336(3)
O(3)Ho(1)O(10)	74,09(6)	N(5)O(4)Ho(1)	94,06(13)	O(2)C(7)N(4)	121,8(2)	N(1)–C(2)	1,463(3)
O(3)Ho(1)N(5)	25,97(6)	N(6)O(6)Ho(1)	95,45(15)	N(4)C(7)N(3)	119,5(2)	N(2)–C(1)	1,319(3)
O(3)Ho(1)N(6)	98,21(7)	N(6)O(7)Ho(1)	97,56(14)	N(4)C(8)C(9)	108,0(2)	N(2)–C(4)	1,468(3)
O(3)Ho(1)N(7)	81,55(6)	N(7)O(9)Ho(1)	96,62(14)	N(4)C(8)C(10)	109,9(3)	N(3)–C(2)	1,455(3)
O(4)Ho(1)O(6)	102,18(7)	N(7)O(10)Ho(1)	95,92(14)	N(4)C(8)C(11)	107,2(2)	N(3)–C(7)	1,340(3)
O(4)Ho(1)N(5)	26,12(6)	C(1)N(1)C(2)	126,6(2)	C(9)C(8)C(11)	108,8(2)	N(4)–C(7)	1,320(3)
O(4)Ho(1)N(6)	84,89(6)	C(1)N(2)C(4)	126,0(2)	C(10)C(8)C(9)	113,7(2)	N(4)–C(8)	1,462(3)
O(4)Ho(1)N(7)	133,16(6)	C(7)N(3)C(2)	127,0(2)	C(10)C(8)C(11)	109,0(2)	C(2)–C(3)	1,533(3)
O(6)Ho(1)N(5)	116,17(7)	C(7)N(4)C(8)	125,9(2)	C(8)C(9)C(2)	117,6(2)	C(2)–C(9)	1,530(3)
O(6)Ho(1)N(6)	25,14(6)	O(3)N(5)Ho(1)	56,63(12)	O(8)N(6)Ho(1)	171,96(17)	C(3)–C(4)	1,525(3)
O(6)Ho(1)N(7)	98,28(7)	O(4)N(5)Ho(1)	59,82(11)	O(9)Ho(1)O(6)	73,47(7)	C(4)–C(5)	1,528(4)
O(7)Ho(1)O(4)	70,96(6)	O(4)N(5)O(3)	116,3(2)	O(7)N(6)Ho(1)	57,01(12)	C(4)–C(6)	1,536(4)
O(7)Ho(1)O(6)	50,41(6)	O(5)N(5)Ho(1)	174,83(19)	O(9)Ho(1)O(4)	132,38(8)	C(8)–C(9)	1,527(4)
O(7)Ho(1)O(10)	111,69(6)	O(5)N(5)O(3)	121,6(2)	O(6)N(6)O(7)	115,9(2)	C(8)–C(10)	1,525(4)
O(7)Ho(1)N(5)	71,05(6)	O(5)N(5)O(4)	122,1(2)	O(7)Ho(1)N(7)	91,68(7)	C(8)–C(11)	1,534(4)
O(7)Ho(1)N(6)	25,42(6)	O(6)N(6)Ho(1)	59,41(13)				

*Операция симметрии: i: [1-x, 1-y, 1-z]

Результаты уточнения состава I с помощью РФА: получены следующие значения параметров решетки (T=293K): a=6,43520(18), b=23,2236(6), c=13,7652(4)Å, β=98,361(2)°, V=2035,33(9) Å³. Средний размер кристаллитов в порошковом образце составляет 135 нм, микронапряжения практически отсутствуют. Все наблюдаемые линии на рентгенограмме соответствуют основной фазе, примесных линий не наблюдается. Содержание основной фазы в образце составляет 100±1%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые синтезирован биядерный комплекс нитрата гольмия(III) с 4,4,10,10-тетраметил-1,3,7,9-тетраазоспиро[5.5]ундекан-2,8-дионом или спирокарбоном (Sk) с координационным числом 9.

2. Координационный полиэдр в полученном комплексе представляет собой значительно искаженную трехшапочную тригональную призму.
3. Методом прямого рентгеноструктурного анализа определена его структура.
4. На основании ИКС и РСА можно сказать, что за счет особенностей строения спирокарбон имеет мостиковую функцию лиганда и склонен формировать биядерные комплексы, с координированием через С=О мочевиновых фрагментов.

Список литературы

1. Глущенко Н. Н. Фармацевтическая химия / Н. Н. Глущенко, Т. В. Плетенева, В. А. Попков. – М.: Академия, 2004. – 382 с.
2. Цивадзе А. Ю. Координационные соединения СоII, NiII, CuII с 2,4,6,8-тетраметил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3,3,0]октандионом-3,7 (Мебикаром) / А. Ю. Цивадзе, И. С. Иванова, И. К. Киреева, О. В. Лебедев, Л. В. Епицина, Т. Б. Маркова, Л. И. Хмельницкий // Неорганической химии. – 1986. – Т. 31, № 7. – С. 1780–1788.
3. Цивадзе А. Ю. Колебательные спектры и строение координационных соединений Cd, Zn, Ca, CuII с 2,4,6,8-тетраметил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3,3,0]октандионом-3,7 / А. Ю. Цивадзе, И. С. Иванова, И. К. Киреева // Неорганической химии. – 1987. – Т. 32, № 8. – С. 1876–1887.
4. Цинцадзе М. Г. Координационные соединения щелочноземельных металлов с 2,6-диэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3,3,0]октандионом-3,7 / М. Г. Цинцадзе, А. Ю. Цивадзе, О. В. Лебедев, Т. М. Маркова // Неорганической химии. – 1987. – Т. 32, № 8. – С. 1821–1828.
5. Цинцадзе М. Г. Координационные соединения цинка и кадмия с 2,6-диэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3,3,0]октандионом-3,7 / М. Г. Цинцадзе, А. Ю. Цивадзе, О. В. Лебедев, Т. М. Маркова // Неорганической химии. – 1987. – Т. 32, № 3. – С. 700–705.
6. Rybakov V. A. Crystal structure and vibration spectra of dichloro(2,6-diethyl-2,4,6,8-tetranitrobicyclo[3.3.0]octane-3,7-dione) mono-aquazinc / V. A. Rybakov, L. A. Aslanov, M. G. Tsintsadze, A. Yu. Tsivadze // Structural Chemistry. – 1989. – Vol. 30, № 1. – P. 151–154.
7. Akyev D. Geometrical aspects of complex formation by bicyclic bisureas / D. Akyev, T. S. Pivina, O. V. Lebedev // Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR, Division of chemical science. – 1990. – Vol. 39, № 9. – P. 1817–1822.
8. Миначева Л. Х. Кристаллическая структура и колебательные спектры дибромида бис-μ(2,6-диэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3,3,0]октандион-3,7) тетраакводилития / Л. Х. Миначева, В. Г. Сахарова, И. С. Иванова, И. К. Киреева, А. Ю. Цивадзе, М. А. Порай-Кошиц // Неорганической химии. – 1988. – Т. 33, № 2. – С. 281–288.
9. Газиева Г. Г. Кристаллическая структура, ИК и ЯМР 1H спектры тетранитрато-бис[μ-(2,4,6,8-тетраэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]октан-дион-3,7-О,О') диэтанолодикадмия / Г. А. Газиева, Д. Г. Голованов, П. В. Ложкин, К. А. Лысенко, А. Н. Кравченко // Неорганической химии. – 2007. – Т. 52, № 9. – С. 1539–1543.
10. Mahbub A. Biopharmaceutical studies of spirobishexahydropyrimidine / A. Mahbub, H. Fazal, L. Khalid // Indian Journal of Experimental Biology. – 1992. – Vol. 30. – P. 1181–1183.
11. Старикович Л. С. Дослідження впливу спірокарбону на фізико-хімічні й біохімічні характеристики еритроцитів щурів у нормі та за алкогольної інтоксикації / Л. С. Старикович, К. П. Дудок, Н. О. Сибірна, О. Н. Речицький, В. А. Єресько, І. Й. Влох, Н. М. Гринчишин // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 58–62.
12. Дудок К. П. Вплив спірокарбону та похідних піролопіримідиндіонів на фізико-хімічні характеристики лігандних форм гемоглобіну in vitro / К. П. Дудок, А. М. Федорович, Т. Г. Дудок, О. Н. Речицький, В. А. Єресько, А. В. Шкаволяк, Н. О. Сибірна // Біологічні студії / Studia Biologica. – 2009. – Т. 3, № 2. – С. 23–34.
13. Старикович Л. С. Дослідження впливу спірокарбону та похідних піролопіримідиндіонів на лейкозні клітини / Л. С. Старикович, М. О. Старикович, О. Н. Речицький, В. А. Єресько, Т. Ю. Косяк, Н. О. Сибірна // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2009. – Т. 3, № 2. – С. 93–98.

14. Дудок К. Роль похідних піролопіримідиндіонів у регуляції фізико-хімічних характеристик гемоглобіну й активності окремих ферментів антиоксидантного захисту крові людей *in vitro* / К. Дудок, Л. Старикович, О. Речицький, А. Шкаволяк, Н. Сибірна // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 60. – С. 126–136.
15. Мусатов А. Г. Факторы оптимизации формирования продуктивности растений и качества зерна ярового ячменя и овса / А. Г. Мусатов, А. А. Семьяшкіна, Р. Ф. Дашевский // Хранение и переработка зерна. – 2007. – № 7. – С. 38–41.
16. Злобин А. И. Морфофизиологические и биохимические изменения у растений ячменя при обработке регуляторами роста: автореф. дис. на получение науч. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.23 „Биотехнология“ / А. И. Злобин. – Москва, 1994. – 18 с.
17. Гуревич А. С. Применение стимуляторов корнеобразования для окоренения черенков декоративных древесных и кустарниковых пород / А. С. Гуревич, В. А. Титов, Э. В. Бабаева и др. // «Интродукция, акклиматизация и культивация растений»: Сб. науч. тр. Калининград: Калинингр. ун-та. – 1998. – С. 30–50.
18. Хрусталева Л. И. Экзогенные регуляторы роста и их влияние на геном растения: автореф. дис. на получение науч. степени докт. биол. наук: спец. 03.00.23 „Биотехнология“ / Л. И. Хрусталева. – Москва, 1994. – 41 с.
19. Козичар М. В. Приемы повышения шерстяной продуктивности овец асканийской тонкорунной породы: автореф. дис. на получение науч. степени канд. с.-х. наук: спец. 06.02.04 „Технологія виробництва продуктів тваринництва“ / М. В. Козичар. – Херсон, 1998. – 16 с.
20. Синтез і дослідження біологічної активності спірокарбону та його комплексних сполук : матеріали VII Всеук. студ. наук. конф. [„Сучасні проблеми природничих наук“], (Ніжин, 21–22 березня 2012 р.) / М–во освіти і науки, молоді та спорту України, Ніжин. держ. ун–т ім. М. Гоголя. – Н.: Ніжин. держ. ун–т ім. М. Гоголя, 2012. – 112 с.
21. Федоренко А. М. Синтез и исследование комплексных соединений лития, цинка и ниобия с 6,6,6'-тетраметил-4,4'-спиробис(гексагидропиридиноном-2,2') / Александр Михайлович Федоренко, Александра Игнатьевна Царева, Михаил Васильевич Повстяной, Н. В. Середюк / Укр. хим. журн. – 1992. – Т. 58, № 7. – С. 519–522.
22. Нетреба Е. Е., Федоренко А. М., Павлов А. А. Синтез и исследование молекулярно-кристаллической структуры 4,4,10,10-тетраметил-1,3,7,9-тетраазоспиро[5.5]ундекан-2,8-диона (спирокарбона – Sk) // Наук. вісник Ужгород. ун-ту (Сер. Хімія). – 2011. – № 1(25). – С. 107–115.
23. Sheldrick G. M. Foundations of Crystallography // Acta Cryst., Sect. A. – 2008. – Vol. 64. – P. 112–122.
24. Rodriguez-Carvajal J., Roisnel T. FullProf.98 and WinPLOTR: New Windows 95/NT Applications for Diffraction. Commission for Powder Diffraction, International Union of Crystallography, Newsletter No.20 (May–August) Summer 1998.
25. Баличева Т. Г., Лобанева О. А. Электронные и колебательные спектры неорганических и координационных соединений. – Л.: Ленингр. ун–т, 1983. – 70 с.
26. Накамото К. Инфракрасные спектры неорганических и координационных соединений. – М.: Мир, 1966. – 224 с.
27. Харитонов Ю. Я. Аналитическая химия. Аналитика. Кн. 1. – М.: Высшая шк., 2003. – 557 с.
28. Накамото К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. – М.: Мир, 1991. – 284 с.
29. Григорьев А. И. Введение в колебательную спектроскопию неорганических соединений. – Л.: ЛГУ, 1977. – С. 84.
30. Зефирюв Ю. В., Зоркий П. М. Ван-дер-ваальсовы радиусы и их применение в химии // Успехи химии. – 1989. – Т. 58, №5. – С. 713–716.

Нетреба Є.Є. Синтез та дослідження молекулярної та кристалічної структури біядерного комплексу нітрату гольмію(III) з 4,4,10,10-тетраметил-1,3,7,9-тетраазоспіро[5.5]ундекан-2,8-діоном / Є.Є. Нетреба // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 239-247.

Вперше синтезовано біядерний комплекс гольмію (III) $[\text{Ho}(\text{NO}_3)_3(\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})_2]$ (I) і визначена його структура. Кристали (I) моноклінні: пр. гр. $P2_1/c$, $a=6,4284(3)$, $b=23,2266(10)$, $c=13,7641(4)\text{\AA}$, $\beta=98,363(4)^\circ$, $V=2033,25(14)\text{\AA}^3$, $d_{\text{роз}}=1,99\text{ г/см}^3$, $Z=2$. Атом гольмію координований двома атомами кисню O (1) і O (2) двох молекул ліганду, пов'язаних між собою операцією симетрії $[1-x, -y, 1-z]$, трьома бідентантними нітрат-аніонами і молекулою води. Координаційне число металу дорівнює 9, координаційні поліедри - викривлена трешапкова тригональна призма. Відстань Ho ... Ho в комплексі становить $9,34\text{\AA}$.

Ключові слова. гольмій(III), спірокарбон, біядерний комплекс, структура, PCA.

Netreba Y. Synthesis and investigation of molecular and crystal structure of coordination compounds of holmium(III) nitrate with 4,4,10,10-tetramethyl-1,3,7,9-tetraazospiro[5.5]undecan-2,8-dion / Y. Netreba // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 239-247.

Structure of first synthesized binuclear complex $[\text{Ho}(\text{NO}_3)_3(\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{H}_2\text{O})_2]$, its structure was determined by means of X-Ray diffraction study. Crystals are monoclinic: sp. gr. $P2_1/c$ $a=6,4284(3)$, $b=23,2266(10)$, $c=13,7641(4)\text{\AA}$, $\beta=98,363(4)^\circ$, $V=2033,25(14)\text{\AA}^3$, $d_{\text{calc}}=1,99\text{ g/cm}^3$, $Z=2$. Each of holmium atoms is coordinated by two oxygen atoms of two symmetry related organic ligand molecules, three bidentate nitrate anions and water molecules. Coordination number of holmium is 9, its coordination polyhedron is a distorted three capped trigonal prism. The Ho...Ho distance in binuclear complex is $9,34\text{\AA}$.

Keywords. holmium(III), spirocarbon, binuclear complex, XRD.

Поступила в редакцію 22.05.2013 г.

УДК 541.138.3

БИМЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ПАЛЛАДИЕВЫЕ ЭЛЕКТРОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК И ХЛОРИДОВ Co, Ni, Fe

Пирский Ю.К., Крупенникова О.С.

*Институт общей и неорганической химии им. В.И.Вернадского НАН Украины Киев,
Украина
E-mail: pirsky@ionc.kiev.ua*

Исследовано влияние хлоридов Co, Ni, Fe на высокотемпературный синтез биметаллических палладиевых электрокатализаторов с углеродными нанотрубками. Установлено, что электрокатализаторы Pd-Co, Pd-Ni и Pd-Fe с УНТ образуют композиционный материал активный в реакции восстановления кислорода за счет частиц металлического палладия образующихся при температурах синтеза не выше 400°C. Показано, что использование хлоридов в высокотемпературном синтезе биметаллических палладиевых электрокатализаторов с углеродными нанотрубками приводит при температурах 500 – 900°C к образованию неактивных форм электрокатализаторов за счет агломерации УНТ при их термообработки.

Ключевые слова. электрокатализаторы, электровосстановление кислорода, углеродные нанотрубки.
PACS numbers: 82.45.-h, 82.47.-a, 82.45.Jn, 81.05.Rm

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в мире наблюдается дефицит электроэнергии из-за постоянного увеличения его потребления, который ведёт к созданию новых эффективных альтернативных источников тока. Известные источники энергии не всегда могут удовлетворять требованиям при их использовании. Одним из актуальных направлений в области работ для малой энергетики является создание дешевых, экологически безопасных и долговечных источников тока – топливных элементов (ТЭ). Существует проблема широкого распространения ТЭ, которая связана с тем, что при их создании обычно используют дорогостоящие платиновые катализаторы. Поэтому синтез новых, доступных и дешевых электрокатализаторов ТЭ, например, на основе многокомпонентных композиционных каталитических систем палладия с включением переходных 3-d металлов является актуальным, так как по своим характеристикам и по стоимости материалов такие электрокатализаторы могут конкурировать с платиновыми катализаторами. Модифицирование поверхности углеродного материала координационными соединениями [1,2] и термообработка способствует тому, что на поверхности углеродного носителя при термическом разложении комплексов, координационный полиэдр, при некоторых условиях, может встраиваться в углеродную поверхность. При этом образуются каталитически активные центры или наноструктурные каталитически активные частицы, которые могут быть активными в реакции

восстановления кислорода. Получение катализаторов из прекурсоров простых солей вместо координационных соединений, как правило, не давало хороших результатов. Причина низкой активности таких катализаторов и их природа оставались невыясненными. Поэтому целью работы было получение композиционных биметаллических палладиевых электрокатализаторов с углеродными нанотрубками (УНТ), исследование влияния хлоридов Co, Ni, Fe и температуры синтеза на активность электрокатализаторов в реакции восстановления O₂.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для синтеза биметаллических электрокатализаторов брали тетрахлооропалладоат калия K₂PdCl₄, который синтезировали из металлического палладия по методике [3], хлориды Co(II), Ni(II) или Fe(III), и углеродный носитель – порошок многослойных углеродных нанотрубок. Электрокатализаторы готовили на основе совместно адсорбированных на углеродный носитель из водных растворов K₂[PdCl₄] и хлорида Co(II), Ni(II) или Fe(III). Для этого водные растворы хлоридов, с соотношением кобальта, никеля или железа к палладию 1 : 3, совместно с УНТ обрабатывали ультразвуком. Комплекс K₂[PdCl₄] брали в расчете 15 % по палладию к УНТ. После этого углеродные нанотрубки с адсорбированными хлоридами металлов сушили при комнатной температуре на воздухе в течение суток. Затем навеску ~200 мг полученной композиции помещали в трубчатый кварцевый реактор, через который пропускали аргон и водород в соотношении 4 : 1, постепенно нагревали до температур 300, 500, 700, 900 °С соответственно и выдерживали в течение одного часа, затем температуру снижали до комнатной.

Фазовый состав порошков углеродсодержащих биметаллических Pd-Co, Pd-Ni и Pd-Fe композиционных электрокатализаторов изучали с помощью рентгеновского дифракционного анализа на дифрактометре ДРОН-3 используя CuKα-излучение с длиной волны 1,54 10⁻¹⁰м и Ni фильтром. Дифрактограммы снимали методом шагового сканирования в интервале углов 2θ 10 - 90°. Шаг сканирования составлял 0.05°, время экспозиции в точке 3 - 7 с. На полученных порошковых дифрактограммах по пикам интенсивности определяли межплоскостное расстояние d относительную интенсивность отражающих атомных плоскостей I/I₀ в процентах, затем по картотеке ASTM идентифицировали соответствующий элемент или химическое соединение.

Состояния поверхности углеродных электрокатализаторов з Pd-Co, Pd-Ni и Pd-Fe, исследовали с помощью растрового электронного микроскопа РЭМ-101.

Электрохимические свойства полученных наноконпозитов исследовали на “плавающем” газодиффузионном электроде (ГДЭ) [4] в реакции восстановления кислорода в электрохимической ячейке с отдельными катодным и анодным пространствами при температуре 20°С на потенциостате ПИ-50-1.1 в 1М растворе KOH. Ток регистрировали миллиамперметром М 2020. Электродом сравнения служил хлорсеребряный электрод.

"Плавающий" газодиффузионный электрод представлял собой таблетку, спрессованную под давлением 5-7 МПа, из гидрофобизированной сажи П-803 массой 300 мг, диаметром 10 мм, плотностью 0,95 г×см⁻³ и толщиной 2 мм. Сажу

гидрофобизировали добавлением 30 % политетрафторэтилена (ПТФЭ). В таблетку впрессовывали никелевый токоотвод. На поверхность электрода наносили тонкий слой (монослой частиц) мелкодисперсного исследуемого материала в количестве не более $1 \text{ мг}\cdot\text{см}^{-2}$, который подпрессовывали давлением $5\div 6 \text{ МПа}$. На электропроводной пористой подложке катализатор удерживался за счет сил адгезии. Монослойное покрытие катализатором поверхности "плавающего" газодиффузионного электрода обеспечивало равнодоступность подачи, кислорода к внешней поверхности зерен катализатора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные каталитической активности в реакции восстановления кислорода при проведении электрохимических исследований биметаллических Pd-M (M= Co, Fe, Ni) электрокатализаторов на УНТ показывают, что их активность зависит от рабочей температуры синтеза. Кинетические параметры электрохимического восстановления кислорода на электрокатализаторах приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Кинетические параметры восстановления кислорода на композиционных биметаллических палладиевых катализаторах на основе окисленных УНТ с Co, Ni и Fe полученных при различных температурах в аргоне в 1 МКОН.

№	Катализатор	Est, В	dE/dlgj, В		j ₀ , А/г
			b ₁	b ₂	
1	ГДЭ-{П-803+30%ПТФЭ}	-0,155	0,060	0,116	$1,0\cdot 10^{-4}$
2	{Pd-Co/УНТ} 300°C	-0,033	0,065	0,120	$3,7\cdot 10^{-2}$
3	{Pd-Fe/УНТ} 300°C	-0,047	0,064	0,124	$1,9\cdot 10^{-2}$
4	{Pd-Ni/УНТ} 300°C	-0,027	0,068	0,130	$1,8\cdot 10^{-2}$
5	{Pd-Co/УНТ} 500°C	-0,052	0,064	0,123	$4,8\cdot 10^{-3}$
6	{Pd-Fe/УНТ} 500°C	-0,055	0,063	0,126	$1,1\cdot 10^{-3}$
7	{Pd-Ni/УНТ} 500°C	-0,017	0,056	0,128	$2,0\cdot 10^{-2}$
8	{Pd-Co/УНТ} 700°C	0,030	0,069	0,135	$8,9\cdot 10^{-3}$
9	{Pd-Fe/УНТ} 700°C	-0,113	0,056	0,122	$7,2\cdot 10^{-3}$
10	{Pd-Ni/УНТ} 700°C	-0,080	0,047	0,125	$4,5\cdot 10^{-3}$
11	{Pd-Co/УНТ} 900°C	-0,089	0,057	0,123	$6,1\cdot 10^{-3}$
12	{Pd-Fe/УНТ} 900°C	-0,077	0,051	0,114	$1,1\cdot 10^{-3}$
13	{Pd-Ni/УНТ} 900°C	-0,088	0,047	0,123	$4,9\cdot 10^{-3}$

Из таблицы видны закономерности: наиболее высокие величины токов обмена j_0 от $1,8\cdot 10^{-2}$ до $3,7\cdot 10^{-2}$ А/г наблюдаются для палладиевых композиционных катализаторов с кобальтом синтезированных при 300°C. В электрокатализаторах, полученных на окисленных многослойных УНТ, могут образовываться фазы металлов, как в виде отдельных фаз так и в виде сплавов на их поверхности. Углы

наклонов стационарных поляризационных кривых $dE/dlgj$ на биметаллических Pd-Co, Pd-Ni и Pd-Fe электрокатализаторах с УНТ лежат в пределах: $b_1 = 0,047 - 0,069$ В, $b_2 = 0,114 - 0,135$ В. Сравнивая величины углов наклона, можно предположить, что реакция восстановления кислорода на исследуемых катализаторах идет через образование пероксида водорода, что характерно для углеродных материалов [5].

Ниже на рис. 1 приведены электрохимические зависимости скорости электровосстановления кислорода композиционных палладиевых катализаторов полученных при 700°C от поляризации электрода и от температуры синтеза (рис. 2).

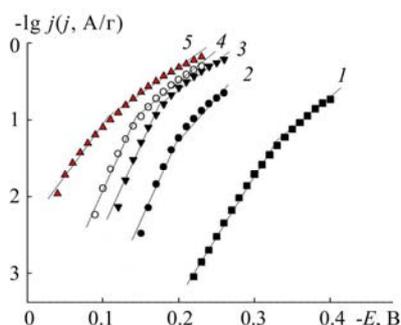


Рис. 1. Стационарные поляризационные зависимости электрокатализаторов восстановления кислорода в 1М КОН: ГДЕ-{П-803+30%ПТФЭ} (1), окисленные УНТ (2); {Pd-Fe/УНТ} 700°C (3), {Pd-Ni/УНТ} 700°C (4); {Pd-Co/УНТ} 700°C (5),

Как видно из рис. 1 наиболее активными являются палладиевые электрокатализаторы с кобальтом и никелем. Стационарная поляризационная кривая 5 на рис. 1 для катализаторов с кобальтом сдвинута в положительную сторону относительно плавающего газодиффузионного электрода (кривая 1) почти на 0,20 В.

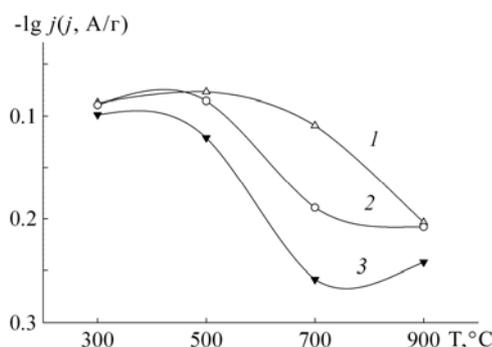


Рис. 2. Зависимости активности композиционных электрокатализаторов восстановления кислорода в 1М КОН от температуры синтеза при $E = -0,1$ В: Pd-Co (1), Pd-Ni (2), Pd-Fe (3).

Из рассмотрения зависимостей активности катализаторов от температуры синтеза (рис. 2) следует, что активность в реакции восстановления O_2 с железом полученного при температуре $300^\circ C$ не сильно отличается от характеристик катализаторов полученных с кобальтом и никелем. С увеличением температуры синтеза активности всех катализаторов снижаются, причем электрохимические характеристики катализаторов с железом и никелем гораздо ниже, чем у катализаторов, полученных с кобальтом.

Таким образом, из проведенных электрохимических исследований можно сделать вывод, что электрокатализаторы с кобальтом, никелем и железом на УНТ образуют композиционный материал активный в реакции восстановления кислорода только при температурах лежащих вблизи $300^\circ C$. Для выяснения причин таких зависимостей и определения природы катализаторов нами был проведен рентгенофазовый анализ электрокатализаторов полученных при 300 , 700 и $900^\circ C$. На рис. 3. приведены дифрактограммы палладиевых катализаторов с Со и их электронные микрофотографии.

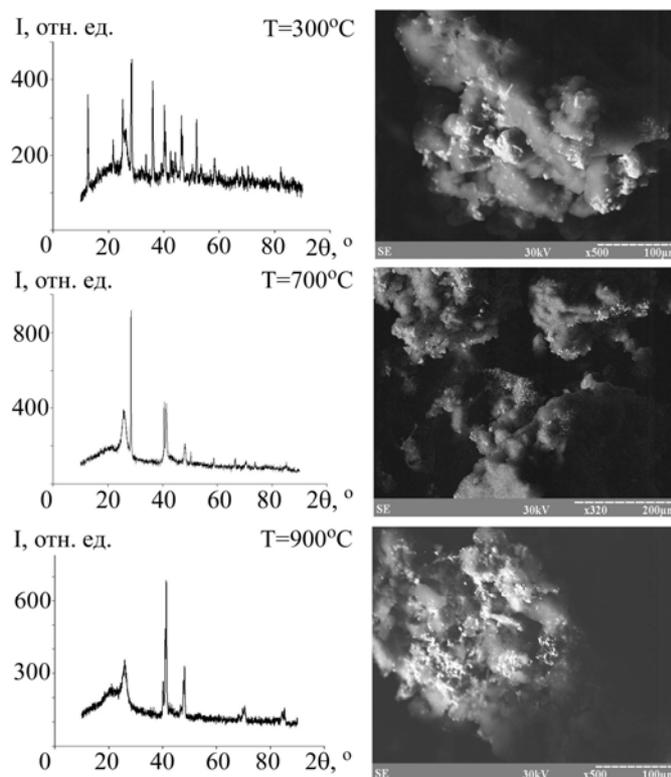


Рис.3. Рентгеновские дифрактограммы и электронные микрофотографии биметаллических электрокатализаторов восстановления кислорода Pd-Co/УНТ, синтезированных при температурах $300^\circ C$ (микрофотография с разрешением $100 \mu m$), $700^\circ C$ ($200 \mu m$) и $900^\circ C$ ($100 \mu m$).

Анализ дифрактограмм показал, что {Pd-Co/УНТ}, {Pd-Ni/УНТ} и {Pd-Fe/УНТ} электрокатализаторы, полученные на основе простых хлоридов на углеродных нанотрубках в зависимости от температуры, представляют собой углеродную фазу, с включениями фаз металлического палладия, кобальта, никеля, железа и их хлоридов. Идентификацию соединений проводили по трем наиболее сильным пикам принадлежащим каждой фазе. При низких температурах близко 300°C для всех палладиевых катализаторов в композите присутствуют, частично, фазы исходных соединений хлоридов, которые не успели прореагировать при такой низкой температуре, а также некоторые новые фазы: фаза металлического палладия и в небольших количествах сплавы палладия с Fe, Ni или Co. Обычно палладий уже при низких температурах до 300°C в восстановительной среде, содержащей водород, может образовывать металлические фазы, что и наблюдалось в нашем эксперименте. Хлориды никеля, кобальта или железа в катализаторе во время измерения электрокаталитической активности в щелочной среде выщелачиваются. Согласно методу "газодиффузионного электрода" измерения активности в реакции восстановления кислорода выполнялись нами с количествами не более 2 мг, что позволяет хлоридам достаточно быстро раствориться и перейти в раствор 1М КОН из катализатора. При температурах 300°C, в случае композиционных электрокатализаторов с железом, никелем и кобальтом, на электрохимические характеристики влияет металлический палладий, входящий в состав катализатора, что объясняет их близкую активность в реакции восстановления кислорода (рис. 2). Далее с увеличением температуры синтеза фазы исходных прекурсоров хлоридов металлов уменьшаются и начинают образовываться при их восстановлении, кроме металлического палладия при 700°C, и фазы кобальта, никеля или железа. Образующиеся фазы металлов, вероятно, частично блокируют активные палладиевые фазы. Присутствие хлоридов во время синтеза катализаторов влияет на агломерацию УНТ при их спекании, что приводит к укрупнению частиц катализатора и уменьшению количества активных центров в реакции восстановления кислорода, снижению активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что использование хлоридов в высокотемпературном синтезе биметаллических палладиевых электрокатализаторов с углеродными нанотрубками приводит к образованию неактивных форм электрокатализатора.

Кобальтсодержащие композиционные электрокатализаторы проявляют более высокую активность по сравнению с железо- или никельсодержащими катализаторами.

Из предыдущих работ [1, 2] и результатов этой работы следует, что синтез электрокатализаторов с углеродными нанотрубками и наночастицами металлов или сплавов разных металлов предпочтительнее выполнять на основе прекурсоров координационных соединений.

Список литературы

1. Пирский Ю.К. Кислородсодержащие комплексные соединения 3d металлов как прекурсоры электрокатализаторов восстановления кислорода. / Ю.К. Пирский, В.С. Кублановский // Вестн. Харьк. гос. политехн. ун-та -2008. № 15. -С. 82-87.
2. Пирский Ю.К. Синтез и формирование активных центров кислородных электрокатализаторов содержащих углерод, азот и 3d-металл. / Пирский Ю.К. // Вопросы химии и химической технологии, 2011, №4(2) стр. 126-128.
3. Синтез комплексных соединений металлов платиновой группы: справочник / под ред. И.И.Черняева – М.: Наука, 1964. – 340 с.
4. Штейнберг Г.В. Исследование кинетики восстановления кислорода на дисперсных углеродистых материалах. / Г.В. Штейнберг, И.А. Кукушкина, В.С. Багоцкий, М.Р. Тарасевич // Электрохимия. - 1979. –Т. 15, №4. -С. 527-532.
5. Тарасевич М.Р. Электрохимия углеродных материалов / М.Р. Тарасевич. –М.: Наука, 1984. -253 с.

Пірський Ю.К. Біметалічні паладієві електрокаталізатори на основі вуглецевих нанотрубок і хлоридів Co, Ni, Fe / Ю.К. Пірський, О.С. Крупеникова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 248-255.

Досліджено вплив хлоридів Co, Ni, Fe на високотемпературний синтез біметалевих паладієвих електрокаталізаторів з вуглецевими нанотрубками. Встановлено, що електрокаталізатори Pd-Co, Pd-Ni і Pd-Fe з УНТ утворюють композиційний матеріал активний в реакції відновлення кисню за рахунок частинок металевого паладію які утворюються при температурах синтезу не вище 400°C. Показано, що використання хлоридів у високотемпературному синтезі біметалевих паладієвих електрокаталізаторів з вуглецевими нанотрубками приводить при температурах 500 - 900°C до утворення неактивних форм електрокаталізатори за рахунок агломерації УНТ при їх термообробки.

Ключові слова. електрокаталізатори, електровідновлення кисню, вуглецеві нанотрубки.

Pirskyy Yu.K. Bimetallic palladium electrocatalysts based on carbon nanotubes and Co-, Ni-, Fe-chlorides / Yu.K. Pirskyy, O.S. Krupennikova // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 248-255.

The influence of chlorides Co, Ni, Fe at high temperature synthesis of bimetallic palladium electrocatalysts with carbon nanotubes has been found. It has been found that electrocatalysts Pd-Co, Pd-Ni and Pd-Fe with CNTs form composite that active in oxygen reduction reaction due to metallic palladium particles which are formed at temperatures of synthesis no higher than 400 °C. It has been shown that the use of chlorides in high-temperature synthesis of bimetallic palladium electrocatalysts with carbon nanotubes at temperatures 500 - 900 °C leads to the formation of inactive forms electrocatalysts by agglomeration CNTs during their heat treatment.

Keywords. electrocatalysts, oxygen electroreduction, carbon nanotubes.

BIMETALLIC PALLADIUM ELECTROCATALYSTS BASED ON CARBON NANOTUBES AND Co-, Ni-, Fe-CHLORIDES

Pirskyy Yu.K., Krupennikova O.S.

Vernadskii Institute of General and Inorganic Chemistry of the Ukrainian NAS

e-mail: pirsky@ionc.kiev.ua

Surface modification of carbon material as a carrier with coordination compounds [1,2], and heat treatment contributes to the fact that the surface of the thermal decomposition of the complexes, the coordination sphere, under certain conditions, can be incorporated into the carbon surface. In this case, catalytically active centers or catalytically active nanostructured particles are formed. Preparation of catalyst precursors instead of simple

salts of coordination compounds does not generally give good results. The reason of the low activity and the nature of such catalysts remained unclear. Therefore, the aim of this work was to obtain composite bimetallic palladium electrocatalysts with carbon nanotubes (CNT), to study the influence of precursors, chlorides of Co, Ni, Fe, and the synthesis temperature on the activity of electrocatalysts in the reduction of O₂.

Composite oxygen reduction electrocatalysts based on oxidized multiwalled carbon nanotubes modified with bimetals Pd-Co, Pd-Ni Pd-Fe were obtained by synthesis at high temperature of 300°C, 500°C, 700°C and 900°C. For the synthesis of bimetallic electrocatalysts we took as precursors potassium tetrachloropalladate K₂PdCl₄, Co, Ni or Fe chlorides and carbon support - multiwalled carbon nanotube powder. Using X-ray diffraction analysis on DRON-3 diffractometer using CuK α -radiation with a wavelength of 1.54·10⁻¹⁰ m, Ni-filter, and microphotographs of electrocatalyst obtained by a scanning electron microscope SEM 101, we identified the nature and morphology of the active sites on the surface of carbon nanotubes. The electrocatalytic activity of the catalysts was examined by electrochemical measurements on a "floating" gas diffusion electrode in an electrochemical cell with separate anode and cathode chambers at 20 °C on potentiostat PI-50 1.1 in 1M KOH solution.

The data obtained during the electrochemical studies of bimetallic Pd-M (M = Co, Fe, Ni) CNT electrocatalysts show that their activity depends on the operating temperature of synthesis. It was noted that at the beginning of heat treatment, electrocatalysts prepared at 300°C show the maximum activity. At the temperature of catalyst synthesis of 30°C and above, partial melting of metal chlorides occurs. On the surface of CNTs metallic palladium particles are formed due to reduction, which are mainly active in the oxygen reduction reaction. At temperatures above 500°C, fusion of chlorides is observed, which block the active centers formed by palladium, which leads to agglomeration of nanotubes and decrease in their activity.

It was thus established that the use of chlorides in the synthesis of bimetallic palladium electrocatalysts with carbon nanotubes at high temperatures leads to the formation of inactive forms of electrocatalyst. Work on the production of electrocatalysts with carbon nanotubes to form nanoparticles of metals or alloys of different metals are performed better on the basis of precursors of coordination compounds. Cobalt composite electrocatalysts show at this temperature higher activity in the reduction of O₂.

References

1. Pirskyy Yu.K. Coordination compounds of transition 3d-metal as precursors of electrocatalysts for oxygen reduction (in Russian) / Yu.K. Pirskyy // Vestnik Kharkov. Univ. -2005. - No 648. - P. 55-58.
2. Pirskyy Yu.K. The synthesis and the formation of active centers of oxygen electrocatalysts containing carbon, nitrogen, and 3d-metal (in Russian) / Pirskyy Yu.K. // Problems of Chemistry and Chemical Engineering, -2011, № 4 (2), pp. 126-128.
3. Tchernyaev I. The synthesis of complex compounds of platinum-group metals: handbook (in Russian) / ed. I. Tchernyaev - Nauka Moscow, 1964. -340 p.
4. Steinberg G. The study of the kinetics of oxygen reduction on disperse carbonaceous materials (in Russian) / G.V. Steinberg, I.A. Kukushkina, V.S. Bagotskii, M.R. Tarasevich // Elektrokhimiya. - 1979. -V. 15, No 4. -P. 527-532.
5. Tarasevich M.R. Electrochemistry of Carbon Materials (in Russian) / M.R. Tarasevich. - Nauka Moscow, 1984. -253 p.

Поступила в редакцию 22.05.2013 г.

УДК 541.138.3

**ЭЛЕКТРОКАТАЛИЗАТОРЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА
НА ОСНОВЕ АЗОТИРОВАННЫХ МЕЛАМИНОМ УГЛЕРОДНЫХ НОСИТЕЛЕЙ
И КОБАЛЬТА**

Пирский Ю.К., Тупчиенко А.С.

*Институт общей и неорганической химии им. В.И.Вернадского НАН Украины, Киев, Украина
E-mail: pirsky@ionc.kiev.ua*

Изучено влияние азота и кобальта в составе электрокатализаторов, синтезированных на основе углеродных носителей (активированных углей и саж), меламина и кобальта, на их активность в реакции восстановления кислорода. Установлено, что композиционные электрокатализаторы с меламином и кобальтом увеличивают свою каталитическую активность в реакции восстановления кислорода. Катализаторы, изготовленные при температурах 600 – 700°C в атмосфере аргона имеют наиболее высокую активность в реакции восстановления кислорода. Электрокатализаторы на основе активированных углей проявляли более высокую каталитическую активность.

Ключевые слова. электрокатализаторы, электровосстановление кислорода, азотирование.

PACS numbers: 82.45.-h, 82.47.-a, 82.45.Jn, 81.05.Rm

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых электрокатализаторов не содержащих платины является одним из перспективных направлений решения проблемы широкого использования топливных элементов. Исследования [1-3], проведенные нами в области создания эффективных электрокатализаторов восстановления кислорода показали, что азот, входящий в состав катализатора, способствует повышению его активности. Введение азота в катализатор возможно несколькими путями. Одним из широко распространенных способов [4,5] – использование комплексных соединений, как азотсодержащих прекурсоров, для синтеза электрокатализаторов – фталоцианиновых, порфириновых и различных макроциклических азотсодержащих координационных соединений. Вторым способом является введение азота непосредственно во время синтеза [6-8] из аминов, аммиака, меламина и других простых азотсодержащих соединений. Целью данной работы было синтезировать кобальтсодержащие электрокатализаторы на основе азотированных меламином углеродных носителей и изучить влияние азота и кобальта в составе катализаторов на их активность в реакции восстановления кислорода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для синтеза электрокатализаторов брали следующие углеродные материалы: активированные угли АГ-3, БАУ и СИТ-1, сажи ХС-72, П-803 и ацетиленовую сажу

(АС). В качестве источника азота использовали азотсодержащий прекурсор - меламина $C_3H_6N_6$, который добавляли к углеродным материалам в количестве 10%. Схематически структурная формула молекулы меламина приведена ниже на рис. 1.

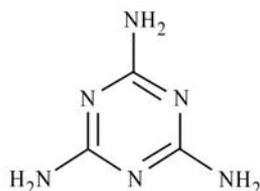


Рис. 1. Схема структурной формулы молекулы меламина.

Из схемы видно, что молекула меламина содержит 6 атомов азота, которые могут частично встраиваться на поверхности углеродного носителя. Кобальт в количестве 5% по отношению к углеродному носителю вводили непосредственно перед термообработкой в углеродную композицию механохимически из гидратированного $CoCl_2 \cdot 6H_2O$. Для этого тщательно растирали полученную смесь в агатовой ступке, затем навеску образца 200 мг помещали в трубчатую кварцевую печь, через которую пропускали аргон и выдерживали 1 час при необходимой температуре. Термообработку электрокаталитических углеродных композиций с меламином и кобальтом проводили при $300^\circ C$, $500^\circ C$, $700^\circ C$ и $900^\circ C$. Активность электрокатализаторов в реакции восстановления кислорода определяли с помощью «плавающего» газодиффузионного электрода [9] на потенциостате ПИ-50-1.1 с использованием трехэлектродной ячейки в 1М КОН при $20^\circ C$. Электродом сравнения служил хлорсеребряный электрод. Газодиффузионный электрод готовили следующим образом: 300мг гидрофобизированной 30% политетрафторэтиленом (ПТФЭ) сажи П803 спрессовывали при давлении 50 кг/см^2 в таблетку $d=10,15 \text{ мм}$, плотностью $\sim 0,95 \text{ г/см}^3$ и толщиной $\sim 1 \text{ мм}$. Как токоотвод использовали впрессованную при изготовлении электрода никелевую проволоку. Затем катализатор весом 1 мг наносили на поверхность электрода и подпрессовывали давлением 20 кг/см^2 . Количество исследуемого электрокатализатора определяли разницей от привеса электрода до, и после подпрессовки порошка катализатора на него. Потенциостатические поляризационные кривые снимали по точкам при постоянных потенциалах, которые задавали потенциостатом ПИ-50-1.1 с шагом 10мВ. Ток регистрировали миллиамперметром М 2020 с экстраполяцией на $t \rightarrow \infty$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Электрохимические исследования показали, что композиционные электрокатализаторы с меламином и кобальтом увеличивают свою активность в реакции восстановления кислорода. На рис. 2 приведены электрокаталитические зависимости активности синтезированных нами углеродсодержащих кислородных катализаторов от их температуры синтеза. Из которого видны некоторые зависимости характерные для определенного типа носителей. Катализаторы,

изготовленные из углеродной сажи, наиболее высокую активность проявляют при температурах 600 – 700°C. С увеличением температуры синтеза до 900°C их активность в реакции восстановления кислорода резко уменьшается, что связано, вероятно, с разрушением активных центров.

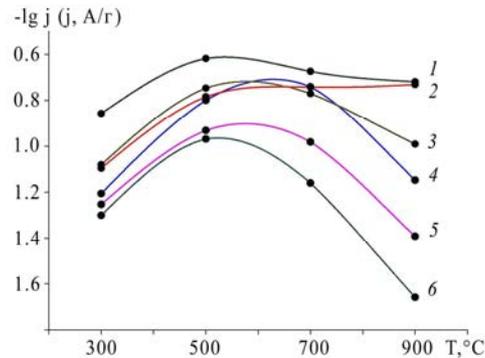


Рис. 2. Зависимости активности композиционных электрокатализаторов восстановления кислорода с меламинам и Со от температуры синтеза в 1М КОН при 20°C на углеродных носителях: СИТ-1 (1), АГ-3 (2), БАУ (3), ХС-72 (4), П-803 (5), АС (6) при $E = -0,16$ В.

Вид кривых для катализаторов, синтезированных на основе активированных углей, несколько отличается. Их активность в реакции восстановления кислорода, с ростом температуры синтеза, растет и стабилизируется от 700°C. Для активированного угля БАУ зависимость активности имеет такой же вид как и у активности катализаторов с углеродными носителями на основе саж. На рис. 3 приведены стационарные поляризационные кривые электрокатализаторов полученных при температуре 700°C.

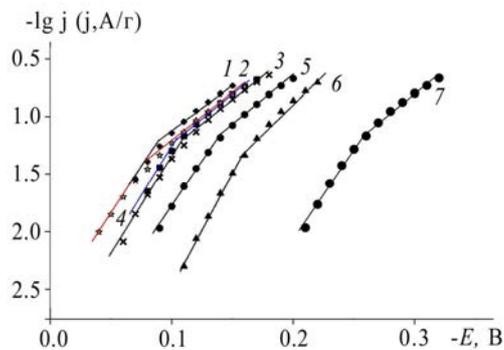


Рис. 3. Потенциостатические поляризационные зависимости композиционных электрокатализаторов (700°C, Аг) восстановления кислорода в 1М КОН при 20°C где: СИТ-1 (1), АГ-3 (2), БАУ (3), ХС-72 (4), П-803 (5), АС (6), П-803+30%ПТФЭ (7).

Из рис. 3. следует, что наиболее активным в реакции восстановления кислорода является катализатор, полученный на углеродном носителе СИТ-1, стационарная поляризационная кривая (1) которого сдвинута в положительную сторону относительно подложки П-803+30%ПТФЭ более чем на 0,16 В. Для сравнения стационарная E , lgj - зависимость худшего катализатора полученного с ацетиленовой сажей, сдвигается в положительную сторону только на 0,09 В относительно подложки. Из рисунка также видно, что кинетические углы наклонов $\partial E/\partial lgj$ для катализаторов схожи между собой. В таблице 1 приведены кинетические характеристики этих катализаторов полученных на разных носителях при 700°C.

Таблица 1

Кинетические параметры электрокаталитического восстановления кислорода на азотсодержащих катализаторах с разными углеродными носителями синтезированных при 700°C в Ar.

№ п/п	Катализатор	E_{st}, B	$\partial E/\partial lgj, B$		$j_0, A/\Gamma$
			b_1	b_2	
1.	П-803+30%ПТФЭ	-0,120	0,060	0,120	$1,0 \cdot 10^{-4}$
2.	АС	-0.053	0.054	0.100	$2.5 \cdot 10^{-3}$
3.	П-803	-0.012	0.060	0.120	$3.2 \cdot 10^{-3}$
4.	БАУ	-0.049	0.061	0.120	$6.3 \cdot 10^{-3}$
5.	АГ-3	-0.035	0.065	0.120	$8.5 \cdot 10^{-3}$
6.	СИТ-1	-0.049	0.064	0.113	$1.6 \cdot 10^{-2}$
7.	ХС-72	-0.066	0.060	0.115	$1.5 \cdot 10^{-2}$

Из таблицы видны некоторые закономерности кинетических параметров электрокатализаторов восстановления кислорода. Углы наклонов стационарных поляризационных кривых для катализаторов лежат в границах: $b_1 = 0,054 - 0,65 B$, $b_2 = 0,113 - 0,120 B$. Величины рассчитанных токов обмена j_0 находятся в пределах от $2.5 \cdot 10^{-3}$ и до $1.6 \cdot 10^{-2} A/\Gamma$, причем для электрокатализаторов с активированным углем СИТ-1 и сажей ХС-72 токи обмена имеют самые высокие значения.

Сравнивая величины углов наклона зависимостей $lgj=f(E)$, можно предположить, что реакция восстановления кислорода протекает на исследованных катализаторах по двух электронному пути через образование пероксида водорода (уравнение 1-3).



С последующей стадией электрохимического восстановления HO_2^- :



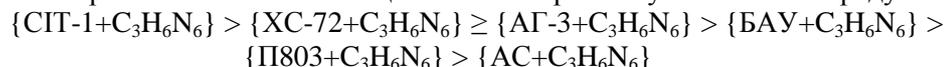
или химической реакции диспропорционирования:



Исходя из величин наклонов кривых $lgj=f(E)$, можно предположить, что для всех случаев, характерно электровосстановление кислорода, протекающее стадийно по одноэлектронному механизму с замедленным присоединением первого

электрона с последующим образованием пероксида водорода, что характерно для активированных углей [10].

Каталитическая активность в реакции электровосстановления кислорода на полученных при 700°C в Ag композиционных материалах уменьшается в ряду:



black Электродкатализаторы на основе угля проявляют более высокую каталитическую активность. При сравнении электродкатализаторов с меламинам и без меламина было установлено, что введение азота повышает их активность. Из всех углеродных носителей электродкатализаторы полученные на основе нанодисперсной сажи XC-72 и азотированные меламинам применение в системах топливных элементов более предпочтительно, так как эта сажа способствует лучшему образованию каталитических чернил для нанесения их на мембрану. Катализаторы электровосстановления кислорода, приготовленные на основе активированных углей можно применять в составе катода для металловоздушных источников тока со щелочным электролитом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что композиционные электродкатализаторы с меламинам и кобальтом увеличивают свою каталитическую активность в реакции восстановления кислорода.

Катализаторы, изготовленные при температуре 700°C в атмосфере аргона показывают лучшие электродкаталитические характеристики в реакции восстановления кислорода на активированном угле СИТ-1 и нанодисперсной саже XC-72.

Электродкатализаторы на основе активированных углей в целом проявляли более высокую каталитическую активность

Список литературы

1. Пирский Ю.К. Координационные соединения переходных 3d-металлов как прекурсоры для электродкатализаторов восстановления кислорода. / Ю.К. Пирский // Вест. Харьков. ун-та. -2005. - № 648. – С. 55-58.
2. Пирский Ю.К. Электродкаталитическая активность фенантролиновых и бипиридиловых комплексов 3-d металлов в реакции восстановления кислорода./ Ю.К. Пирский, А.Л. Прокопчук. // Укр. хим. журн. 2003, Т.69, №3, -С.72-75.
3. Пирский Ю.К. Модифицирование углей продуктами пиролиза гетеробиметаллических МпII/МпI и ZnII/МпI (M=Cu,Ni) комплексов для электровосстановления кислорода. / Ю.К. Пирский // Доповіди НАН України. -2008. №10. –С. 148-154.
4. Тарасевич М.Р. Электродкатализ кислородной реакции пирополимерами N4-комплексов / М.Р. Тарасевич, К.А. Радюшкина, Г.В. Жутаева // Электрохимия, -2004. –Т. 40, № 11, -С. 1369-1383.
5. Wiesener K. N4 macrocycles as electrocatalysts for the cathodic reduction of oxygen / K. Wiesener, D. Ohms, V. Neumann, R. Franke // Mater. Chem. Phys. –1989, –V. 22 –P. 457-475.
6. Gupta S. Heat-treated polyacrylonitrile-based catalysts for oxygen electroreduction / S. Gupta, D. Tryk, I. Bae, W. Aldred [at all] // J. Appl. Electrochem., -1989, –V. 19, –P. 19-27.
7. Faubert G. Activation and characterization of Fe-based catalysts for the reduction of oxygen in polymer electrolyte fuel cells / G. Faubert, R. Côté, D. Guay, J.P. Dodelet [at all] // Electrochim. Acta, -1998, –V. 43, -P. 1969-1984.
8. He P. Oxygen reduction catalysts for polymer electrolyte fuel cells from the pyrolysis of various transition metal acetates adsorbed on 3,4,9,10-perylenetetra-carboxylic dianhydride. / P. He M. Lefèvre,

- G. Faubert, J. P. Dodelet // J. New Mater. Electrochem. Syst. -1999, -V. 2, №4. -P. 243-251.
9. Штейнберг Г.В. Исследование кинетики восстановления кислорода на дисперсных углеродистых материалах. / Г.В. Штейнберг, И.А. Кукушкина, В.С. Багоцкий, М.Р. Тарасевич // Электрохимия. - 1979. -Т. 15, №4. -С. 527-532.
10. Тарасевич М.Р. Электрохимия углеродных материалов / М.Р. Тарасевич. -М.: Наука, 1984. -253 с.

Пірський Ю.К. Електрокаталізатори відновлення кисню на основі азотованих меламіном вуглецевих носіїв і кобальту / Ю.К. Пірський, А.С. Тупчиєнко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 256-262.

Вивчений вплив азоту і кобальту у складі електрокаталізаторів, синтезованих на основі вуглецевих носіїв (активованого вугілля і саж), меламіну та кобальту, на їх активність в реакції відновлення кисню. Встановлено, що композиційні електрокаталізатори з меламіном і кобальтом збільшують свою каталітичну активність в реакції відновлення кисню. Каталізатори, виготовлені при температурах 600 - 700°C в атмосфері аргону мають найвищу активність в реакції відновлення кисню. Електрокаталізатори на основі активованого вугілля проявляли вищу каталітичну активність.

Ключові слова. електрокаталізатори, електровідновлення кисню, азотування.

Pirskyy Yu.K. Oxygen reduction electrocatalysts based on melamine nitrated carbon-supports by and cobalt / Yu.K. Pirskyy, A.S. Tupchienko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 256-262.

The influence of nitrogen and cobalt in electrocatalysts synthesized from carbon media (activated carbon and carbon black), melamine and cobalt on their activity in the oxygen reduction reaction has been studied. It has been found that composite electrocatalysts with melamine and cobalt increase their catalytic activity in the oxygen reduction reaction. Catalysts made at temperatures of 600 - 700°C in an argon atmosphere have the highest activity in the oxygen reduction reaction. Electrocatalysts based on activated carbons showed higher catalytic activity.

Keywords. electrocatalysts, oxygen electroreduction, nitrating.

OXYGEN REDUCTION ELECTROCATALYSTS BASED ON MELAMINE NITRIDED CARBON-SUPPORTS AND COBALT

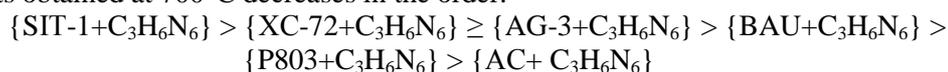
Pirskyy Yu.K., Tupchienko A.S.

*Vernadskii Institute of General and Inorganic Chemistry of the Ukrainian NAS
e-mail: pirsky@ionc.kiev.ua*

The development of new non-platinum electrocatalysts is one of the most promising ways to solve the problem of wide use of fuel cells. Investigations carried out by us in the field of efficient oxygen reduction electrocatalysts have shown that nitrogen as a part of the catalyst enhances their activity. Introduction of nitrogen into the catalyst can be performed in several ways. One common way is using nitrogen precursor (e.g. metal phthalocyanines, porphyrin complexes, and various nitrogen-containing macrocyclic coordination compound). Second method is introduction of nitrogen directly during synthesis (e.g. the use of nitrogen precursor, amines, ammonia, melamine, etc.) The purpose of this work is to synthesize cobalt-based electrocatalysts on the basis of melamine-nitrated carbon supports and to examine the effect of nitrogen and cobalt in catalysts on their activity in the oxygen reduction reaction.

For the synthesis of electrocatalysts the following carbon materials: acetylene black (AC), carbon black XC-72 and P-803, activated carbons AG-3, BAU and SIT-1 were used. The nitrogen source was melamine C₃H₆N₆, the amount of which added to the carbon materials

was 10%. Cobalt was introduced into the carbon composition mechanochemically from hydrated $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ before the heat treatment. Heat treatment of electrocatalytic carbon compositions with melamine and cobalt was carried out at temperatures of 300°C, 500°C, 700°C and 900°C. The activity of electrocatalysts in the reduction reaction of oxygen was determined by "floating" gas diffusion electrode on potentiostat PI-50-1.1 using a three-electrode cell in 1M KOH at 20°C. Silver chloride electrode was used as a reference electrode. It was found that composite electrocatalysts with melamine and cobalt increase their catalytic properties in the oxygen reduction reaction. Basically electrocatalysts based on coal exhibited higher catalytic activity. Kinetic slope angles lie within $b_1=50-60$ mV and $b_2=100-120$ mV. The calculated values of exchange current j_0 were from $1.5 \cdot 10^{-2}$ to $1.0 \cdot 10^{-4}$ A/g. The electrocatalytic activity in the oxygen reduction reaction at the investigated catalysts obtained at 700°C decreases in the order:



Electrocatalysts obtained from nano-dispersed carbon black XC-72 and nitrated melamine showed superior performance in the oxygen reduction reaction. Application of XC-72 fuel cell systems is preferred because it contributes to better formation of catalyst ink for applying it to a membrane. Oxygen reduction electrocatalysts prepared on the basis of activated carbon can be advantageously used for metal-air power sources.

Keywords: electrocatalysts, oxygen electroreduction, nitriding.

References

1. Pirskey Yu.K. Coordination compounds of transition 3d-metal as precursors of electrocatalysts for oxygen reduction (in Russian) / Yu.K. Pirskey // Vestnik Kharkov. Univ. -2005. - No 648. - P. 55-58.
2. Pirskey Yu.K. Electrocatalytic activity of bipyridyle and phenanthroline complexes of 3-d metals in the oxygen reduction reaction (in Russian) / Yu.K. Pirskey, A.L. Prokopchuk // Ukr. Khim. Zhurn. -2003 V.69, No 3,-P.72-75.
3. Pirskey Yu.K. Modification of carbon pyrolysis products heterobimetallic MnII / MII and ZnII / MII (M = Cu, Ni) systems for the electrochemical reduction of oxygen (in Russian) / Yu.K. Pirskey // Dopovidi NAN Ukrayiny. -2008. No 10. -P. 148-154.
4. M.R. Tarasevich Electrocatalysis of oxygen reaction with pyropolymers of N4 complexes (in Russian) / M.R. Tarasevich, KA Radyushkin, GV Zhutaeva // Elektrokimiya, -2004. -V. 40, No 11. -P. 1369-1383.
5. Wiesener K. N₄ macrocycles as electrocatalysts for the cathodic reduction of oxygen / K. Wiesener, D. Ohms, V. Neumann, R. Franke // Mater. Chem. Phys. -1989, -V. 22 -P. 457-475.
6. Gupta S. Heat-treated polyacrylonitrile-based catalysts for oxygen electroreduction / S. Gupta, D. Tryk, I. Bae, W. Aldred [at all] // J. Appl. Electrochem., -1989, -V. 19, -P. 19-27.
7. Faubert G. Activation and characterization of Fe-based catalysts for the reduction of oxygen in polymer electrolyte fuel cells / G. Faubert, R. Côté, D. Guay, J.P. Dodelet [at all] // Electrochim. Acta, -1998, -V. 43, -P. 1969-1984.
8. He P. Oxygen reduction catalysts for polymer electrolyte fuel cells from the pyrolysis of various transition metal acetates adsorbed on 3,4,9,10-perylenetetracarboxylic dianhydride. / P. He M. Lefèvre, G. Faubert, J. P. Dodelet // J. New Mater. Electrochem. Syst. -1999, -V. 2, №4. -P. 243-251.
9. Steinberg G. The study of the kinetics of oxygen reduction on disperse carbonaceous materials (in Russian) / G.V. Steinberg, I.A. Kukushkina, V.S. Bagotsky, M.R. Tarasevich // Elektrokimiya. - 1979. - V. 15, No 4. -P. 527-532.
10. Tarasevich M.R. Electrochemistry of Carbon Materials (in Russian) / M.R. Tarasevich. - Nauka Moscow, 1984. -253 p.

Поступила в редакцию 22.05.2013 г.

УДК 664.85:665.36:543.544

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ШАЛФЕЙНОГО ВОСКА

Ходаков Г.В.

*Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет»
E-mail: gennadii-hodakov@mail.ru*

Установлено химическое строение некоторых компонентов шалфейного воска, который является побочным продуктом заводской технологии получения склареола из шалфея мускатного. Хромато-масс-спектрометрическим методом в шалфейном воске идентифицировано 17 компонентов, относящихся к терпеноидам, алкановым углеводородам, флавоноидам и стероидам.

Ключевые слова. шалфей мускатный, шалфейный воск, хромато-масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из самых важных проблем технологии переработки растительного сырья является проблема его комплексного использования, которое предполагает тщательное изучение химического состава и физико-химических свойств отходов производства и поиск путей их целевого использования. При экстракционной переработке шалфея мускатного ценным отходом является воск. Шалфейный воск по данным ВНИИЭМК представляет собой комплекс веществ липидной природы, которые могут быть использованы прежде всего в парфюмерно-косметической и фармацевтической промышленности [1, 2]. Установлено, что в состав шалфейного воска входят предельные и непредельные углеводороды, пигменты, также высшие жирные спирты и их эфиры. Среди парафинов при этом преобладают углеводороды С-24 и С-27. Из полярных веществ в конкрете шалфея преобладает склареол (до 60%). После выделения из конкрета воск шалфея имел состав: примерно 15% склареола и более 70% неполярных углеводородов. Использование шалфейного воска в фармацевтической, парфюмерно-косметической промышленности, а также в стоматологии изучалось крымскими учеными [3, 4].

Воски растительного происхождения относятся к группе липидов, представляющих собой, в основном, сложные эфиры жирных кислот и одноатомных высокомолекулярных спиртов. Кроме того, к воскоподобным веществам относятся высокоплавкие жирные кислоты, спирты, лактоны, стеролы и углеводороды. Поверхность клеточных стенок покрывных тканей содержит сложные воски – кутин и суберин. Это сложные эфиры разветвленных одно- и двухатомных спиртов и разветвленных жирных и оксикислот. При этом эфирные связи образуются между карбоксильной группой одной кислоты и гидроксильной группой другой. По химическому составу к воскам относят и сложные эфиры каротиноидов – физалиен и гелениен, имеющие красноватые тона.

Свежие яблоки покрыты гладкой блестящей кожурой, содержащей воски, которые являются поверхностной защитой плодов. Если половину яблока обработать тампоном, смоченным этанолом, то через несколько дней обработанный участок, лишенный водонепроницаемого слоя сморщится, а мякоть под ним станет рыхлой. Именно наличие воска в покровном слое спасает плоды от обезвоживания и повреждения спорами грибов.

Содержание восков в кожице колеблется от 0,4 до 0,7% в пересчете на сырую массу и зависит от сорта яблок и климатических условий. Очевидно, существует зависимость сроков хранения плодов от содержания восков в кожуре. Поэтому дополнительное воскование будет препятствовать быстрому увяданию плодов, снижая потери на 40–50%.

Применение для этих целей пчелиного воска дорогостоящий процесс. Использование же парафина требует дополнительного введения дезинфицирующих средств. Следовательно, источник сырья для воскования плодов должен отвечать ряду требований, а именно, быть доступным, дешевым и обладать бактерицидными свойствами. Этим требованиям отвечают воски некоторых эфирноносных растений и, в частности, шалфея мускатного. Они накапливаются в качестве отходов при производстве склареола из конкрета шалфея мускатного. Кроме того, исследования, проведенные в Крымском государственном медицинском университете им. С.И. Георгиевского, показали, что шалфейный воск, полученный сотрудниками ВНИИЭМКа, обладает ценными целебными свойствами, в том числе противогрибковыми и противомикробными [3, 4]. В составе шалфейного воска был обнаружено вещество с антибиотическими свойствами – сальвинин, представляющий смесь органических кислот.

В Южном филиале Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет» проводится научно-исследовательская работа по инициативной тематике, в которой одним из подразделов является «Исследования возможностей использования отходов переработки шалфея мускатного в пищевых технологиях» (№ государственной регистрации 0111U008808).

В результате проведенных исследований с использованием метода обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии обнаружено в воске шалфея мускатного шесть компонентов, каждый из которых был охарактеризован спектром в ультрафиолетовой области. Сравнительный анализ полученных УФ-спектров и литературных данных позволил установить строение одного из этих веществ, которое является сальвигенином (5-гидрокси-4,6,7-триметоксифлавоном) [5], обладающим бактерицидными свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Качественное и количественное исследование компонентного состава воска шалфея мускатного проводили методом хромато-масс-спектрометрии на хроматографе Agilent Technologies 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973 и базой данных N 1ST02. Условия хроматографического анализа: колонка кварцевая длиной 30 м с внутренним диаметром 0,25 мм, газ-носитель – гелий,

расход газа-носителя 1 мл/мин, температура испарителя 249°C, температура термостата программируемая от 50°C до 230°C (3 °C/мин), объем вводимого образца (гексановый экстракт воска) 0,1 мкл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для всестороннего химического исследования компонентов шалфейного воска был применен метод газожидкостной хроматографии.

Проведенными исследованиями установлено присутствие в шалфейном воске 77 компонентов, при этом идентифицировано 17 (таблица). В количественном отношении идентифицированные компоненты составляют 56,57% от общей массы шалфейного воска. Другую часть составляют неидентифицированные компоненты. Очевидно, что большинство неидентифицированных компонентов являются продуктами термической деструкции и образовались при выделении из конкрета шалфея мускатного после выделения целевого продукта – склареола. Идентифицированные компоненты относятся к трем классам органических веществ: терпеноидам (компоненты с 1 по 10), алкановым углеводородам (компоненты 11, 12, 14 и 16), один – к флавоноидам (компонент 15) и два – к стероидам (компоненты 13 и 17). Несмотря на извлечение склареола как целевого продукта, он остается главным компонентом шалфейного воска (19,24%). Вторыми по количественному содержанию идут алкановые углеводороды, которые по своему суммарному количеству несколько превосходят склареол (21,28%). Третьим – флавоноид (5,39%), а затем стероиды, содержание которых в сумме составляет 4,42%.

Конкрет шалфея мускатного получают для выделения склареола. После его извлечения из конкрета он остается основным компонентом (19,24%) отходов наряду с другими ценными веществами. Многолетние свалки этих отходов засоряют окружающие завод территории. Поэтому разработка метода глубокого извлечения склареола с параллельным получением дополнительных веществ из заводских отходов, называемых шалфейным воском, является перспективной задачей, которая рассматривается как комплексное использование растительного сырья. К таким ценным компонентам шалфейного воска относятся нонакозан (6,85%), гентриаконтан (6,93%), тритриаконтан (7,11%), β-ситостерин (2,21%).

Наряду с обнаруженным нами ранее флавоноидом сальвигенином в шалфейном воске присутствует флавоноид 5-окси-4',7,8-триметоксиизофлавонон с содержанием 5,39%, оба обладают антимикробным действием. Природные алкановые углеводороды шалфейного воска нонакозан, гентриаконтан, тритриаконтан в сочетании с антимикробными веществами флавоноидной природы могли бы послужить вполне удачным средствам для защиты скоропортящейся пищевой продукции при закладке их на длительное хранение. Тем более что это средство природное и не имеет каких либо побочных эффектов на организм человека при длительном соприкосновении с защищаемым пищевым продуктом.

Таким образом, использование шалфейного воска может идти в двух направлениях, во-первых, выделение его компонентов как ценных биологически активных веществ, во-вторых, сам шалфейный воск можно применять в качестве

защитного средства для пищевых продуктов при закладке их на длительное хранение.

Таблица

Идентифицированные химические компоненты воска шалфея мускатного

№ п/п	Химические компоненты воска	Время удерживания, (мин.)	Массовая доля, (%)
1	β-агарофуран	24,51	0,40
2	Гвайол	25,98	0,97
3	10-эпи-γ-эвдесмол	26,57	0,19
4	Склареолоксид	30,30	1,83
5	Эпи-маноилоксид	31,68	0,90
6	Маноилоксид	31,94	0,49
7	Эпи-маноол	32,35	0,86
8	13,14-лабдиен-8-ол	32,95	0,30
9	13-абиенол	33,78	0,30
10	Склареол	34,36	19,24
11	Гептакозан (С-27)	38,90	0,39
12	Нонакозан (С-29)	40,76	6,85
13	4,7-диметилапигенин	41,33	2,21
14	Гентриаконтан (С-31)	43,11	6,93
15	5-окси-4',7,8-триметоксиизофлавонон	43,87	5,39
16	Тритриаконтан (С-33)	45,45	7,11
17	β-ситостерин	45,79	2,21
	Итого:		56,57

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Воск шалфея мускатного содержит комплекс биологически активных веществ, которые являются ценным продуктом, причем идентифицированные компоненты относятся к терпеноидам, алкановым углеводородам, флавоноидам и стеринам.
2. Воск шалфея мускатного может послужить источником биологически активных веществ антибиотической природы.
3. Воск шалфея мускатного может быть использован как защитное средство при длительном хранении скоропортящейся продукции сельскохозяйственного производства.

Список литературы

1. Мельников В.Н. Исследование фракционного состава конкретов и восков лаванды и шалфея / В.Н. Мельников, Л.Н. Лупачева., К.Г. Персидская, В.И. Тютюнник // Тр. ВНИИЭМК. - Т. XIX – 1988 – С. 181–184.
2. Загута Н.Ф. Усовершенствование технологии и оборудования для выделения абсолютных эфирных масел из экстрактов / Н.Ф. Загута, Е.С. Кочетков // Тр. ВНИИЭМК. –Т. XXI – 1990. – С. 1444–150.

3. Медко В.П. Применение компонентов эфиромасличных растений в стоматологии / В.П. Медко, С.Н. Сысоев, Л.Г. Орловская // Новое в стоматологии. – № 2 – 1994 – С. 26–28.
4. Сысоев Н.П. Действие воска мускатного шалфея на процессы регенерации при раневых травмах / Н. П. Сысоев // Тр. Крыммедуниверситета. – 1989 – Т. 125 – С. 272–274.
5. Глушко Г.И. Перспективы использования шалфейного воска для защиты поверхности плодов перед закладкой на хранение / Г.И. Глушко, Е.С. Ножко, Г.В. Ходаков, Н.А. Стацук // Наукові праці Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України «Кримський агротехнологічний університет». - Технічні науки. – 2010. – Вип. 131. – С. 47–51.

Ходаков Г.В. Компонентний склад воску шавлію / Ходаков Г.В. // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 263-267.

Встановлено хімічну будову деяких компонентів шавлієвого воску, який є побічним продуктом заводської технології отримання склареолу з шавлії мускатної. Хромато-мас-спектрометричним методом у шавлієвому воску ідентифіковано 17 компонентів, що належать до терпеноїдів, алканових вуглеводнів, флавоноїдів і стеринів.

Ключові слова. шавлія мускатна, шавлієвий віск, хромато-мас-спектрометрія.

Khodakov G.V. Composition sage wax / Khodakov G.V. // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 263-267.

Established the chemical structure of some components of sage wax, which is a byproduct of the industrial technology, obtaining sclareol of clary sage. Chromatography-mass spectrometry sage wax method in 17 identified related components terpenoids alkane hydrocarbons, flavonoids and sterols.

Keywords. clary, sage wax, chromatography-mass spectrometry.

Поступила в редакцію 12.05.2013 г.

УДК 547.918:547.587.11:543.42

ПАРАМЕТРЫ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ СОЛОДКИ И ПЛЮЩА С АСПИРИНОМ

Яковичин Л.А.¹, Гришковец В.И.², Корж Е.Н.¹, Клименко А.В.¹, Дегтяр А.Д.¹

¹Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

²Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Определены константы устойчивости комплексов аспирина с тритерпеновыми гликозидами α -хедерином (3-*O*- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-арабинопиранозидом хедерагенина), хедерасапонином С (3-*O*- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-арабинопиранозил-28-*O*- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-глюкопиранозидом хедерагенина) и глицирамом (моноаммонийной солью глицирризиновой кислоты). Рассчитаны свободные энергии Гиббса процессов комплексообразования.

Ключевые слова. тритерпеновые гликозиды, глицирризиновая кислота, глицирам, α -хедерин, хедерасапонин С, аспирин, молекулярный комплекс, спектрофотометрия, константа устойчивости.

ВВЕДЕНИЕ

Ранее мы сообщали о комплексообразовании аспирина (ацетилсалициловой кислоты, AcSal, рис. 1) с тритерпеновыми гликозидами α -хедерином (3-*O*- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-арабинопиранозидом хедерагенина, гликозид **1**, рис. 1), хедерасапонином С (3-*O*- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-арабинопиранозил-28-*O*- α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-глюкопиранозидом хедерагенина, гликозид **2**, рис. 1) и глицирамом (моноаммонийной солью глицирризиновой кислоты, GC, рис. 1) [1–3]. Гликозиды **1** и **2** являются сапонинами плюща [4]. Глицирризиновая кислота – преобладающий гликозид корней солодки [5].

В настоящей статье рассмотрено определение термодинамических параметров молекулярного комплексообразования AcSal с GC и гликозидами **1** и **2** в водных растворах методом спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали образец GC фирмы «Calbiochem» (США). Тритерпеновые гликозиды **1** и **2** выделяли из листьев плющей крымского *Hedera taurica* Carr. и канарского *Hedera canariensis* Willd. (Araliaceae Juss.). Методики выделения и установления строения приведены в работах [6, 7].

УФ-спектры получены при температуре 28 °С на спектрофотометре Unicо UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветах ($l=1$ см). Для составления изомольярных серий использовали $5 \cdot 10^{-4}$ М водные растворы AcSal и гликозидов **1** и **2**, а также 10^{-4} М

растворы AcSal и GC (pH 7,2, фосфатный буфер $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$). Полученные смеси выдерживали при температуре 28 °С в течение 40 мин при постоянном перемешивании.

Для определения K комплекса $\text{AcSal}\cdot\text{GC}_2$ смешивали 10^{-4} М растворы AcSal и GC (pH 7,2) в объемном отношении 1:2, полученную смесь выдерживали при температуре 28 °С в течение 40 мин при постоянном перемешивании и измеряли ее оптическую плотность A_1 . Затем смесь разбавляли буферным раствором в 2 раза и измеряли ее оптическую плотность A_2 .

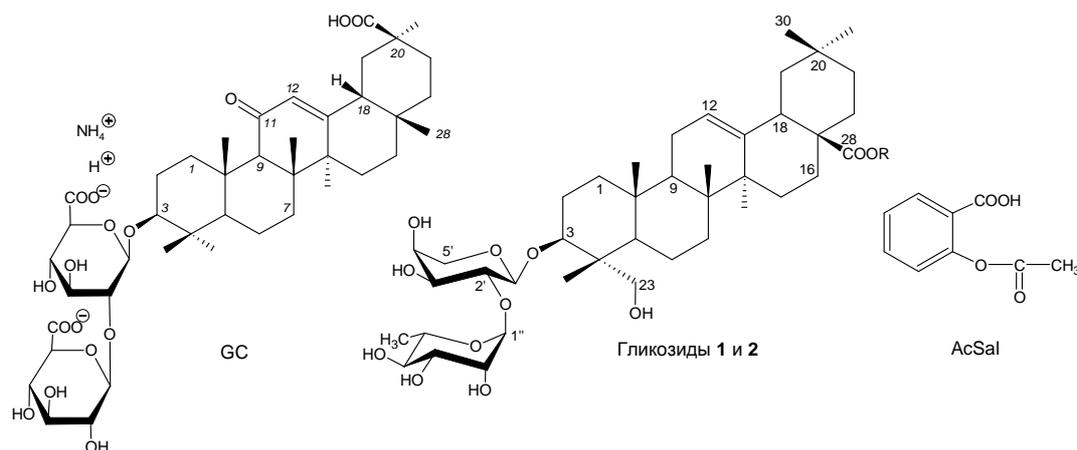
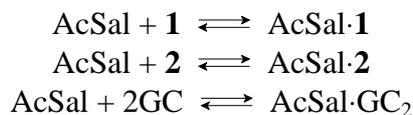


Рис. 1. Аспирин (AcSal), моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (глицирам, GC) и гликозиды α -хедерин (**1**; R=H) и хедерасопонин C (**2**; R= $\leftarrow\beta\text{Glc}_p\text{-(6}\leftarrow\text{1)-}\beta\text{Glc}_p\text{-(4}\leftarrow\text{1)-}\alpha\text{Rha}_p$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состав комплексов AcSal с гликозидами определен методом изоляриных серий (методом Остромысленского–Жоба) [8]. Изоляриные кривые, полученные при этом, приведены в работе [3]. Для комплексов AcSal с гликозидами **1** и **2** установлен состав 1:1. Комплекс AcSal с GC имеет состав 1:2.

В растворах устанавливаются равновесия между AcSal и гликозидами следующего вида:



$$K_1 = \frac{[\text{AcSal}\cdot\mathbf{1}]}{[\text{AcSal}][\mathbf{1}]}; K_2 = \frac{[\text{AcSal}\cdot\mathbf{2}]}{[\text{AcSal}][\mathbf{2}]}; K_3 = \frac{[\text{AcSal}\cdot\text{GC}_2]}{[\text{AcSal}][\text{GC}]^2}, \quad (1)$$

где K_1 , K_2 и K_3 – константы равновесия, являющиеся константами устойчивости соответствующих комплексов.

Молекулярные комплексы гликозидов плюща с AcSal. На основе изомольярных кривых [3] рассчитали константы нестойкости комплексов K_n ($K_n=1/K$) по методу [9], используя закон разбавления Оствальда (формула 2). Метод применим для комплексов состава 1:1.

$$K_n = \frac{\alpha^2 c}{1 - \alpha}, \quad (2)$$

где c – концентрация вещества, М, а α – степень диссоциации комплекса, которую находили по формуле 3. Т.к. AcSal и ее комплексы с гликозидами плюща **1** и **2** имеют максимумы поглощения при 269 нм, то величину α определяли с учетом $\Delta A = A_{\text{смеси}} - A_{\text{AcSal}}$.

$$\alpha = \frac{\Delta A_0 - \Delta A_1}{\Delta A_0}, \quad (3)$$

где ΔA_0 – изменение оптической плотности, соответствующее комплексу при полном отсутствии диссоциации, а ΔA_1 – изменение оптической плотности, соответствующее значению на фактической кривой.

Свободная энергия Гиббса ΔG для процессов комплексообразования определена по формуле 4. Результаты расчетов K и ΔG приведены в табл. 1.

$$\Delta G = -2,3RT \lg K. \quad (4)$$

Установлено, что $K_{\text{AcSal-1}} > K_{\text{AcSal-2}}$, поэтому комплекс гликозида **1** является более устойчивым. Ранее методом масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением также было показано, что интенсивность пика иона комплекса $[M^1 + M^{\text{AcSal}} - H]^-$ больше интенсивности пика иона комплекса $[M^2 + M^{\text{AcSal}} - H]^-$ [2]. Большую стабильность комплекса AcSal-**1** можно объяснить наличием свободной карбоксильной группы в агликонной части гликозида, которая участвует в межмолекулярном взаимодействии с AcSal. У гликозида **2** карбоксильная группа отсутствует.

Молекулярный комплекс GC с AcSal. Комплекс GC с AcSal имеет состав 2:1 [3]. В этом случае K рассчитывали на основе рассмотрения отношения раствора комплекса к разбавлению по формуле 5 [9]. При этом учитывали, что GC и его комплекс поглощают при 258 нм, поэтому $\Delta A = A_{\text{смеси}} - A_{\text{GC}}$.

$$K = \frac{(c_1 \sqrt[3]{\Delta A_2} - c_2 \sqrt[3]{\Delta A_1})(\Delta A_1 \sqrt[3]{\Delta A_2} - \Delta A_2 \sqrt[3]{\Delta A_1})^2}{4(\Delta A_1 c_1 - \Delta A_2 c_1)^4}, \quad (5)$$

где c_1 – общая концентрация веществ, М, c_2 – общая концентрация после разбавления, М, ΔA_1 и ΔA_2 – соответствующие изменения оптических плотностей до и после разбавления. Результаты расчетов приведены в табл. 1.

Высокая стабильность данного комплекса связана с образованием циклического самоассоциата GC, в полости которого располагается молекула AcSal. Ранее были получены комплексы глицирризиновой кислоты, имеющие высокие значения K . Они так же, как и комплекс GC с AcSal, представляли собой клатраты, в которых полость

была сформирована молекулами глицирризиновой кислоты. Например, у комплекса глицирризиновой кислоты с блокатором кальциевых каналов нифедипином (состав 2:1) $K=1,2 \cdot 10^5$ [10, 11]. Для комплекса с гиполипидемическим препаратом симвастатином (состав 4:1) установлена $K=3 \cdot 10^{14}$ [11].

Таблица 1
Термодинамические параметры комплексообразования AcSal с GC и гликозидами 1 и 2 в водных растворах при 28 °С (рН 7,2)

Комплекс	K	ΔG , Дж/моль
AcSal-1	9203,80 М ⁻¹	-22815,73
AcSal-2	7500,02 М ⁻¹	-22304,02
AcSal-GC ₂	5,12·10 ¹¹ М ⁻²	-67396,01

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые рассчитаны K комплексов главных гликозидов плюща с AcSal. Для процессов комплексообразования найдены ΔG . Комплекс гликозида 1 с AcSal оказался более устойчивым.
2. Для комплекса GC с AcSal рассчитана K , составляющая $5,12 \cdot 10^{11} \text{ М}^{-2}$. Высокую устойчивость комплекса можно объяснить его клатратной структурой.

Список литературы

1. Яковишин Л.А. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с аспирином / Л.А. Яковишин, В.И. Гришконец, Е.Н. Корж // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 2. – С. 288–293.
2. Электроспрей-ионизационная масс-спектрометрия смесей тритерпеновых гликозидов с ацетилсалициловой кислотой (аспирином) / А.В. Лекарь, Л.А. Яковишин, С.Н. Борисенко [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 291–297.
3. Яковишин Л.А. Спектрофотометрия молекулярного комплексообразования тритерпеновых гликозидов солодки и плюща с аспирином / Л.А. Яковишин // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 279–284.
4. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
5. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / [Г.А. Толстиков, Л.А. Балтина, В.П. Гранкина и др.]. – Новосибирск: Гео, 2007. – 311 с.
6. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А.С. Шашков, В.И. Гришконец, А.А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
7. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B1, L-B2, L-C, L-D, L-E1, L-G1, L-G2, L-G3, L-G4, L-H1, L-H2 и L-I1 из листьев *Hedera canariensis* / В.И. Гришконец, Д.Ю. Сидоров, Л.А. Яковишин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
8. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
9. Бабко А.К. Физико-химический анализ комплексных соединений в растворах / А.К. Бабко. – К.: Изд-во АН УССР, 1955. – 328 с.

10. Tolstikova T.G. The complexes of drugs with carbohydrate-containing plant metabolites as pharmacologically promising agents / T.G. Tolstikova, M.V. Khvostov, A.O. Bryzgalov // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 9, № 11. – P. 1317–1328.
11. Polyakov N.E. Glycyrrhizic acid as a novel drug delivery vector: synergy of drug transport and efficacy / N.E. Polyakov, T.V. Leshina // *Open Conf. Proc. J.* – 2011. – Vol. 2. – P. 64–72.

Яковішин Л.О. Параметри молекулярних комплексів тритерпенових глікозидів солодцю та плюща з аспірином / Л.О. Яковішин, В.І. Гришковець, О.М. Корж, А.В. Клименко, О.Д. Дегтяр // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 268-272.

Визначено константи стійкості комплексів аспірину з тритерпеновими глікозидами α -хедерином (3-*O*- α -*L*-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабінопіранозидом хедерагеніну), хедерасAPONІНОМ С (3-*O*- α -*L*-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабінопіранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопіранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-глюкопіранозидом хедерагеніну) та гліцирамом (моноамонійною сіллю гліциризинової кислоти). Розраховано вільні енергії Гіббса процесів комплексоутворення.

Ключові слова. тритерпенові глікозиди, гліциризинова кислота, гліцирам, α -хедерин, хедерасAPONІН С, аспірин, молекулярний комплекс, спектрофотометрія, константа стійкості.

Yakovishin L.A. Parameters of the molecular complexes of licorice and ivy triterpene glycosides with aspirin / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, E.N. Korzh, A.V. Klimenko, A.D. Degtyar // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 268-272.

Stability constants of aspirin complexes with triterpene glycosides α -hederin (hederagenin 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-arabinopyranoside), hederasaponin C (hederagenin 3-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-arabinopyranosyl-28-*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-glucopyranoside) and glycyram (monoammonium glycyrrhizinate) were determined. Gibbs's free energies of complexation processes are calculated.

Keywords. triterpene glycosides, glycyrrhizic acid, glycyram, α -hederin, hederasaponin C, aspirin, molecular complex, spectrophotometry, stability constant.

Поступила в редакцію 14.05.2013 г.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Алексеев И.В.** Член-корреспондент Российской экологической академии, Симферополь
- Артеменко
Олександр Юрійович** ННЦ «Институт біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, к.б.н., асистент кафедри біофізики, e-mail: artemenko_alex@ukr.net
- Бабан
Владимир Николаевич** НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, інж.1 кат.
- Баличиева
Дилярам Валиевна** Республиканское высшее учебное заведение Крымский инженерно-педагогический университет, кафедра биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности, доктор биологических наук, зав. каф, тел. (0562) 230365
- Баттерс
Терри Д.** Институт гликобиологии Оксфордского университета, доцент факультета биохимии, заведующий лабораторией химии и биологии ингибиторов – иминосахаров
- Белалов
Вадим Вадимович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: vadim.belalov@mail.ru
- Бразалук
Олександр Захарович** ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», д.б.н., професор, зав. кафедрою біохімії, медичної та фармацевтичної хімії, e-mail: abrazaluk@mail.ru
- Браилко
Валентина
Анатольевна** Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, аспирант отдела физиолого – биохимических исследований, биотехнологии и репродуктивной биологии, лаборатория физиологии и репродуктивной биологии растений, e-mail: valentina.brailko@yandex.ru
- Бурда
Виктор Евстафьевич** "Севастопольский винзавод", технический директор
- Валиев
Энвер Велиуллаевич** РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», кафедра технологического образования, старший преподаватель, e-mail: envervaliev@ukr.net
- Весельский
Станислав Павлович** НИИ физиологии имени академика Петра Богача Учебно-научного центра «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела общей физиологии

Вовкун Татьяна Виктровна	НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, інж.2 кат.
Волков Михайло Анатолійович	Миколаївський базовий медичний коледж, Спеціаліст-викладач
Гончаренко Олексій Володимирович	Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, наук. співр. науково-дослідної валеологічної лабораторії
Горная Оксана Ивановна	Мелитопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького, к.б.н., e-mail: gornaya-o@ukr.net.
Гринченко Ольга Анатольевна	НИИ физиологии имени академика Петра Богача Учебно-научного центра «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник отдела физиологии кровообращения
Гришковец Владимир Иванович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой физической и аналитической химии
Дегтяр Алексей Дмитриевич	Севастопольский национальный технический университет, студент 4 курса кафедры физики
Дягилева Юлия Олеговна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: yulia_dyagileva@mail.ru
Ёлкина Наталья Маратовна	Крымский факультет Запорожского национального университета, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физического воспитания, спорта и здоровья человека, e-mail: nataleiolkina@gmail.com
Земляков Александр Евгеньевич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, д.х.н., профессор кафедры органической и биологической химии
Кириллова Алла Викторовна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Клименко Анастасия Владимировна	Севастопольский национальный технический университет, студентка 4 курса кафедры физики

Ковальчук Александр Николаевич	Национальный научно-природоведческий музей НАН Украины, отдел палеозоологии позвоночных, аспирант
Комаренко Наталія Сергіївна	Державна установа «Київський обласний лабораторний центр Держсаєпідслужби України», Завідувачка лабораторії особливо небезпечних інфекцій відділу дослідження біологічних факторів, тел. (044)4831608, e-mail: yasyacool@yandex.ru
Коновалова Олена Олегівна	Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, доцент каф. Валеології, кандидат біологічних наук
Коношенко Світлана Владимировна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, д.б.н., профессор кафедры биохимии, e-mail: konoshenko@crimea.edu
Корж Елена Николаевна	Севастопольский национальный технический университет, кандидат химических наук, доцент кафедры физики (цикл химии)
Костюк Александра Сергеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: alexkostyuk@mail.ru
Костюк Ольга Володимирівна	ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», пошукач наукового ступеня кандидат біологічних наук, викладач кафедри біохімії, медичної та фармацевтичної хімії, e-mail: olenka.dp@mail.ru
Котиков Илья Викторович	РВУЗ «Крымский гуманитарный университет», старший научный сотрудник «Научно-методического центра экономических исследований» (инновационного центра), старший преподаватель кафедры информатики и информационных технологий, e-mail: alfa_001_your_partner@mail.ru
Крохмаль Ирина Игоревна	Донецкий ботанический сад НАН Украины, заведующая лабораторией цветоводства, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Крупеникова Оксана Сергеевна	Институт общей и неорганической химии им. В.И. Вернадского, аспирант лаборатории материалов альтернативной электрохимической энергетики
Кузьменко Олена Вікторівна	ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», м.н.с., e-mail: kuzmenko@mail.ru
Куленкова Анна Андреевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: anna.kulenkova@gmail.com

Кулініч Анна Олександрівна	ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», к.б.н., викладач кафедри біохімії, медичної та фармацевтичної хімії, e-mail: akulinich@ymail.com
Лебедев Алексей Владимирович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент 4 курса биологического факультета
Ляміна Наталія Вікторівна	Институт біології південних морів ім. О.О.Ковалевського Національної академії наук України, провідний інженер, e-mail: BurmistrovaN@mail.ru
Мамедов Хагани Фарзуллаевич	Институт Радиационных Исследований Национальной АН. Республики Азербайджан, докторант, кандидат химических наук, начальник Департамента Комплексных Исследований, тел.: (99450) 3373411, e-mail: xagani06@mail.ru
Мартинюк Віктор Семенович	ННЦ «Институт біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, д.б.н., професор, завідувач кафедри біофізики, e-mail: mavispublisher@gmail.com
Маслак Ганна Сергіївна	ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», к.б.н., старший викладач кафедри біохімії, медичної та фармацевтичної хімії, e-mail: maslak_anna@mail.ru
Машейко Іван Володимирович	ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», к.м.н., викладач кафедри біохімії, медичної та фармацевтичної хімії, e-mail: mash_7@mail.ru
Мельник Марія Ігорівна	ННЦ «Институт біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, аспірант кафедри біофізики, e-mail: gribovamari@gmail.com
Мельнікова Олена Борисівна	Институт біології південних морів ім. О.О.Ковалевського Національної академії наук України, науковий співробітник, Кандидат біологічних наук, e-mail: helena_melnikova@mail.ru
Минин Владимир Владимирович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, преподаватель кафедры ТФВ
Минина Елена Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., преподаватель кафедры физической реабилитации
Нетреба Евгений Евгеньевич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физической и аналитической химии, e-mail: evgtnu@gmail.com

Павленко Владимир Борисович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой общей психологии
Панов Денис Александрович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.х.н., доцент кафедры физической и аналитической химии, тел. (0652) 608497, e-mail: mendes@inbox.ru
Панова Светлана Алексеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Парфенова Ирина Александровна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры валеологии и безопасности жизнедеятельности человека, e-mail: Antares_Irina@ukr.net
Пирский Юрий Кузьмич	Институт общей и неорганической химии им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией материалов альтернативной электрохимической энергетики, e-mail: pirsky@ionc.kiev.ua
Письменецкая Ирина Юрьевна	Днепропетровская государственная медицинская академия, доцент кафедры биохимии, медицинской и фармацевтической химии, e-mail: pirina2004@list.ru
Русев Иван Трифонович	Государственное учреждение «Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И. Мечникова», к.б.н., зав.лаб. экологии носителей и переносчиков возбудителей особо опасных инфекций, тел.: (048) 732-94-57, e-mail: rusevivan@ukr.net
Скребовська Світлана Вікторівна	Київський національний університет імені Тараса Шевченка ННЦ "Інститут біології, провідний біолог, викладач біології
Темурьянц Наталья Арменаковна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: timur328@gmail.com
Туманянц Каринэ Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник по ПНИЛ, старший преподаватель кафедры медико-биологических основ физической культуры, e-mail: timur328@gmail.com
Тупчиенко Александр Сергеевич	Институт общей и неорганической химии им. В.И. Вернадского, аспирант лаборатории материалов альтернативной электрохимической энергетики

Ходаков Геннадий Васильевич	Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет», доцент кафедры технологии и оборудования переработки жиров и эфирных масел, кандидат химических наук, e-mail: gennadii-hodakov@mail.ru
Цикалова Виктория Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.х.н., с.н.с. научно-исследовательской части
Челебиева Е.С.	Институт біології південних морів імені О.О. Ковалевського НАН України, аспірант
Шейх-Заде Мамет-Исмет	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», кафедра технологического образования, кандидат физико-математических наук, доцент
Шинкаревский Петр Васильевич	Республиканское высшее учебное заведение Крымский инженерно-педагогический университет, кафедра биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности, кандидат биологических наук, ст. преподаватель, e-mail: petr-agu@mail.ru
Штанова Лидия Яковлевна	НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, ст.наук.співроб.
Яковишин Леонид Александрович	Севастопольский национальный технический университет, кандидат химических наук, доцент кафедры физики (цикл химии), e-mail: chemsevntu@rambler.ru.
Янцев Александр Викторович	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Янчук Петро Іванович	НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу фізіології кровообігу
Ярмолюк Наталья Сергеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, преподаватель кафедры медико-биологических основ физической культуры, e-mail: nat_yarm@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Баличиева Д.В., Шинкаревский П.В.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ДЕЙСТВИЯ
ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СИСТЕМУ3

Браилко В.А.

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ПОБЕГОВ ВИДОВ РОДА *LONICERA* L. В УСЛОВИЯХ
ИНТРОДУКЦИИ НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА (ЮБК).....10

Волков М.А.

ОСОБЛИВОСТІ ФІЗИЧНОГО РОЗВИТКУ ШКОЛЯРІВ З РІЗНИМИ ТИПАМИ
ГЕМОДИНАМІКИ18

Горная О.И.

ИЗМЕНЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЖИВОТНЫХ С РАЗНЫМ
ПРОФИЛЕМ МОТОРНОЙ АСИММЕТРИИ В УСЛОВИЯХ НОРМЫ И
ГИПОКИНЕТИЧЕСКОГО СТРЕССА25

Дягилева Ю.О., Белалов В.В., Павленко В.Б.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ЗЕРКАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ У
ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА34

Ёлкина Н.М., Коношенко С.В.

ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОТДЕЛЬНЫХ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....41

Кириллова А.В., Янцев А.В., Панова С.А.

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА КЕДРА НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ ЧЕЛОВЕКА.46

Ковальчук А.Н.

МИОЦЕНОВАЯ И ПЛЕЙСТОЦЕНОВАЯ ИХТИОФАУНА МНОГОСЛОЙНОГО
МЕСТОНАХОЖДЕНИЯ ПРОТОПОПОВКА (ОДЕССКАЯ ОБЛАСТЬ, УКРАИНА)..52

Комаренко Н.С.

ОСОБЛИВОСТІ ІКСОДОФАУНИ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ В ПРИРОДНИХ
ОСЕРЕДКАХ ТРАНСМІСІВНИХ ІНФЕКЦІЙ.....59

Коновалова О.О., Гончаренко О.В.

ВПЛИВ НАВАНТАЖЕННЯ МАРГАНЦЕМ НА ВМІСТ МАКРОЕЛЕМЕНТІВ В
ОРГАНАХ ЩУРІВ67

Костюк А.С., Ярмолюк Н.С., Туманянц К.Н., Лебедев А.В.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ НА
ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС.75

Крохмаль И.И. РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ РОДА <i>AQUILEGIA</i> L. В УСЛОВИЯХ СТЕПНОЙ ЗОНЫ УКРАИНЫ.	82
Кузьменко Е.В. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПРОЯВЛЕНИЯХ МЕХАНИЗМОВ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА.	95
Куленкова А.А., Павленко В.Б. ВЗАИМОСВЯЗЬ ТЕМПЕРАМЕНТА ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ ТРЕХ ЛЕТ ЖИЗНИ С ИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ.	107
Маслак Г.С., Костюк О.В., Кулініч А.О., Машейко І.В., Бразалук О.З. СПІВВІДНОШЕННЯ ГЛІКОФОРМ ФІБРОНЕКТИНУ ТА α -1 КИСЛОГО ГЛІКОПРОТЕЇНУ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА МІЄЛО- ТА ЛІМФОЛЕЙКОЗИ. .	115
Мельник М.І., Артеменко О.Ю., Мартинюк В.С. ВПЛИВ СЛАБКИХ НИЗЬКОЧАСТОТНИХ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ ПОЛІВ НА ВНУТРІШНЬОКЛІТИННУ КОНЦЕНТРАЦІЮ КАЛЬЦІЮ ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИН.....	123
Мельникова Е.Б., Лямина Н.В. ВЫЯВЛЕНИЕ МЕТОДОМ РАЗЛОЖЕНИЯ В РЯД ФУРЬЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ РИТМОВ ГИДРОБИОНТНЫХ СООБЩЕСТВ.....	133
Минин В.В., Минина Е.Н. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗЕРВОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У БОКСЁРОВ РАЗНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ.....	141
Минина Е.Н. АНАЛИЗ ВОЛНЫ Т ЭКГ В ФАЗОВОМ ПРОСТРАНСТВЕ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ МИОКАРДА	148
Парфенова И.А. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ АНИОННОГО И КАТИОННОГО ДЕТЕРГЕНТОВ НА РОСТ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛИ <i>PLATYMONAS VIRIDIS</i>	154
Письменецкая И.Ю., Баттерс Т.Д. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙТРАЛЬНОЙ И ЗАРЯЖЕННОЙ ФРАКЦИЙ СВОБОДНЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ СУБЛЕЙКЕМИЧЕСКОМ МИЕЛОЗЕ.....	159
Русев И.Т., Алексеев Е.В. ПРИРОДНЫЕ ОЧАГИ ИНФЕКЦИЙ: СТРУКТУРА, РАЗМЕРНОСТЬ, ИЕРАРХИЯ, ТАКСОНОМИЯ	168
Темурьянц Н.А., Костюк А.С., Туманянц К.Н. УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В ИЗМЕНЕНИИ НОЦИЦЕПЦИИ МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ЭКРАНИРОВАНИИ.....	178

Челебієва Е.С., Скребовська С.В. МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ФІЛОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ <i>SCENEDESMUS RUBESCENS</i> (CHLOROPHYTA).....	189
Янчук П.І., Штанова Л.Я., Грінченко О.А., Вовкун Т.В., Весельський С.П., Бабан В.М. КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ ШЛУНКОВОЇ СЕКРЕЦІЇ ТА КРОВОТОКУ В СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ШЛУНКА У ХРОНІЧНО АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ.	197
ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ	
Бурда В.Е., Панов Д.А. ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВИНОГРАДНЫХ СУСЕЛ ПРИ ПОЭТАПНОМ ПРИГОТОВЛЕНИИ РЕЗЕРВУАРНЫХ ЛИКЕРОВ.....	206
Валиев Э.В., Шейх-Заде М.И. ОБ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ПОГРЕШНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПО ИК-СПЕКТРАМ КОНСТАНТЫ РАВНОВЕСИЯ ОБРАЗОВАНИЯ КОМПЛЕКСОВ С ВОДОРОДНОЙ СВЯЗЬЮ В СЛУЧАЕ САМОАССОЦИИ ДОНОРА ПРОТОНА	211
Земляков А.Е., Цикалова В.Н. ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ГЛИКОЗИДОВ МУРАМОИЛДИПЕПТИДА С АЛИФАТИЧЕСКИМИ АГЛИКОНАМИ C ₁₀ -C ₁₄	216
Котиков И.В., Ходаков Г.В. ЛИПИДЫ ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ РАСТЕНИЙ <i>ARTEMISIA</i> <i>BALCHANORUM KRASCH</i>	222
Мамедов Х.Ф. РАДИОЛИТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ВО ВЛАЖНЫХ ЗЕРНАХ КУКУРУЗЫ, ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ.....	226
Нетреба Е.Е. СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ БИЯДЕРНОГО КОМПЛЕКСА НИТРАТА ГОЛЬМИЯ(III) С 4,4,10,10- ТЕТРАМЕТИЛ-1,3,7,9-ТЕТРААЗОСПИРО[5.5]УНДЕКАН-2,8-ДИОНОМ.....	239
Пирский Ю.К., Крупенникова О.С. БИМЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ПАЛЛАДИЕВЫЕ ЭЛЕКТРОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК И ХЛОРИДОВ Co, Ni, Fe	248
Пирский Ю.К., Тупчиенко А.С. ЭЛЕКТРОКАТАЛИЗАТОРЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КИСЛОРОДА НА ОСНОВЕ АЗОТИРОВАННЫХ МЕЛАМИНОМ УГЛЕРОДНЫХ НОСИТЕЛЕЙ И КОБАЛЬТА ...	256
Ходаков Г.В. КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ШАЛФЕЙНОГО ВОСКА.....	263

Яковшин Л.А., Гришковец В.И., Корж Е.Н., Клименко А.В., Дегтяр А.Д.
ПАРАМЕТРЫ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ
СОЛОДКИ И ПЛЮЩА С АСПИРИНОМ..... 268

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ 273

СОДЕРЖАНИЕ 279