

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ
КРЫМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО
УНИВЕРСИТЕТА имени В. И. ВЕРНАДСКОГО.
БИОЛОГИЯ. ХИМИЯ

Научный журнал

Том 4 (70), № 2

Журнал «Ученые записки Крымского федерального
университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия»
является историческим правопреемником журнала «Ученые записки
Таврического университета», который издается с 1918 г.

Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского
Симферополь, 2018

Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС77-61791 от 18 мая 2015 года.
Выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций.

**Учредитель – ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»
Печатается по решению Научно-технического совета Крымского федерального
университета имени В. И. Вернадского, протокол № 1 от 5 марта 2018 г.**

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы
основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание
ученой степени доктора наук, отрасль науки 03.02.00 – общая биология, 03.03.00 – физиология,
02.00.00 – химические науки, дата включения – 12.07.2017, а также в систему «Российский индекс
научного цитирования» (РИНЦ)

**Редакционная коллегия журнала «Ученые записки Крымского федерального
университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия»:**

Главный редактор – Чуян Елена Николаевна, д. б. н., проф.

Ответственный секретарь – Туманянц К. Н., к. б. н., доц.

Технический редактор – Ярмолюк Н. С., к. б. н., доц.

Раздел «Биология»:

1. Диатроптов Михаил Евгеньевич, д. б. н., с. н. с.
2. Ивашов Анатолий Васильевич, д. б. н., проф.
3. Колесников Сергей Ильич, д. с-х. н., проф.
4. Коношенко Светлана Владимировна, д. б. н., проф.
5. Кореньюк Иван Иванович, д. б. н., проф.
6. Котов Сергей Федорович, к. б. н., доц.
7. Лебедева Наталья Николаевна, д. б. н., проф.
8. Новоселов Владимир Иванович, д. б. н., проф.
9. Павленко Владимир Борисович, д. б. н., проф. (редактор раздела «Биология»)
10. Перов Сергей Юрьевич, д. б. н., в. н. с.
11. Плугатарь Юрий Владимирович, д. б. н., член-корр. РАН
12. Рубцова Нина Борисовна, д. б. н., проф.
13. Рябинина Зинаида Николаевна, д. б. н., проф.

Раздел «Химия»:

14. Гришковец Владимир Иванович, д. х. н., проф. (редактор раздела «Химия»)
15. Гусев Алексей Николаевич, д. х. н., проф.
16. Еременко Игорь Леонидович, академик РАН
17. Земляков Александр Евгеньевич, д. х. н., проф.
18. Кукушкин Вадим Юрьевич, член-корр. РАН
19. Новоторцев Владимир Михайлович, академик РАН
20. Панюшкин Виктор Терентьевич, д. х. н., проф.
21. Шульгин Виктор Федорович, д. х. н., проф.

Подписано в печать 7.03.2018. Формат 70x100 1/16.

Заказ № НП/126. Тираж 50. Индекс, цена.

Дата выхода в свет « » 2018 г.

Отпечатано в управлении редакционно-издательской деятельности

ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»

Адрес редакции, издательства и типографии:

295051, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7

<http://sn-biolchem.cfuv.ru>

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 4 (70). 2018. № 2. С. 3–10.

УДК 57.085.23

ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *CRAMBE MARITIMA* L. И ИХ ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Бугара И. А.¹, Омельченко А. В.¹, Газель Е. В.¹, Кирилин К. О.²

¹Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия

²Медицинская академия им. С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского»
E-mail: bia.05@mail.ru

Показана возможность получения каллусных культур *C. maritima* при культивировании листовых эксплантов на питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л кинетинном. Используемая питательная среда была эффективна для дальнейшего пассирования каллуса. На основании цитологических исследований первичных и пассируемых каллусных культур *C. maritima* показано присутствие в них клеток меристематического типа, клеток паренхимного типа, различающихся по размеру, а также трахеальных элементов.

Ключевые слова: *Crambe maritima* L., каллусная культура.

ВВЕДЕНИЕ

Катран приморский – *Crambe maritima* L. относится к семейству Brassicaceae, является литоральным видом, произрастающим на прибрежных песках, галечниках, ракушечниках. Естественный ареал распространения – Северная, Центральная и Восточная Европа, Средиземноморье, Черноморское побережье Кавказа. На территории Республики Крым охраняется в Ялтинском горнолесном, Карадагском, Казантипском и Опукском природных заповедниках, национальном природном парке «Тарханкутский» и других особо охраняемых природных территориях [1]. Введен в культуру в Ботаническом саду Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского [2]. Также *C. maritima* внесен в европейский Красный список сосудистых растений [3], в список дикорастущих растений, которые могут служить генетическим материалом для улучшения ценных сельскохозяйственных культур [4].

Интерес практического применения *C. maritima* основан на биохимических особенностях вида, связанных с содержанием флавоноидных гликозидов и потенциально antimicrobных глюкозинолатов [5, 6]. Несмотря на то, что *C. maritima* не является фармакопейным растением и в настоящее время не входит в Государственный реестр лекарственных средств РФ, перспективным является

применение его в медицинской практике в качестве фитотерапевтического средства. В этой связи является актуальной разработка биотехнологических методов получения клеточных культур, способных к синтезу и накоплению биологически активных веществ, с возможностью последующего использования их при разработке косметических и лекарственных препаратов.

Выполненные ранее исследования по биотехнологии *C. maritima* были связаны с решением вопросов оптимизации составов питательных сред для получения каллусных и суспензионных культур и дальнейшей регенерации растений [7]. При этом авторы отмечали, что индукцию каллусообразования и последующую регенерацию микропобегов возможно получить на питательной среде, содержащей бензиламинопурин, индолилуксусную кислоту и кинетин. Для индукции корнеобразования адвентивные микропобеги переносили на питательную среду, дополненную индолилмасляной или индолилуксусной кислотами [8]. Вместе с тем введение в состав питательной среды 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты приводило к образованию светло-зеленого, неморфогенного каллуса [7]. Питательные среды, дополненные бензиламинопурином и кинетином, также были эффективны для прямой регенерации укорененных микропобегов из различных типов эксплантов вегетативных органов *C. maritima* [4].

Вместе с тем исследований, посвященных изучению вопросов получения и пассирования каллусных культур *C. maritima*, ранее не проводилось. Поэтому актуальным является подбор составов питательных сред для индукции каллусообразования и пассирования каллуса *C. maritima*, а также проведение изучения цитологических особенностей каллусных культур.

Цель настоящего исследования – получение каллусных культур *C. maritima* и их цитологическое описание.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили растения *C. maritima*, полученные из семян, собранных в Сакском районе Республики Крым в 2017 году. Семена проращивали в чашках Петри на бумажных фильтрах с добавлением 10 мл дистиллированной воды. Перед посадкой проводили поверхностную обработку семян 1 % раствором перманганата калия в течение 10 минут. Чашки Петри с семенами помещали в инкубатор на 7 суток при температуре 25 °С без освещения. После 7 суток проростки переносили в пластиковые стаканчики на 200 мл с субстратом из почвы и агроперлита. Полив растений проводили по мере необходимости, но не реже 2-х раз в неделю.

Подготовку посуды, инструментов, питательных сред и растительного материала проводили по методике, общепринятой в работах по культивированию изолированных клеток, тканей и органов растений [9].

Для культивирования листовых эксплантов и получения каллусных культур *C. maritima* использовали агаризованную питательную среду Мурасиге и Скуга [10], содержащую 2,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП) и 0,5 мг/л кинетина. Приготовленную питательную

среду разливали в химические пробирки 16x150 П-1 по 10 мл и по 30 мл в колбы Эрленмейера на 100 мл, автоклавировали при температуре 115 °С в течение 25 минут.

Поверхностную стерилизацию эксплантов проводили 7 % раствором гипохлорита натрия в течение 15 минут с последующей промывкой в трех сменах автоклавированной дистиллированной воды, по 15 минут в каждой. После стерилизации листовые пластинки разрезали на сегменты размером 5x10 мм. Помещение эксплантов на питательную среду выполняли в ламинарном боксе MSC Advantage™ Thermo Fisher Scientific II класса биологической безопасности. Культивирование эксплантов проводили в инкубаторе лабораторном Climacell™ MMM Medcenter Einrichtungen GmbH при 16-ти часовом фотопериоде, освещенности 70 % от максимальной, влажности 60 %, температуре световой фазы 26 °С, темновой – 22 °С. Один цикл культивирования (пассаж) составлял 45 суток.

Для цитологических исследований каллусных культур *C. maritima* готовили временные давленные препараты участков каллуса, размером не более 2,0 мм, которые помещали на предметные стекла и окрашивали в 0,1 % растворе метиленового синего в течение 5 минут, а также в 2 % растворе ацетокармина в течение 10 минут. Для получения монослоя клеток каллусные культуры мацерировали в 1 Н растворе HCl в течение 10 минут при температуре 60 °С. Препараты анализировали под микроскопом Olympus CX53. Объем выборки составлял не менее 30 клеток каждого типа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первые признаки каллусообразования в культуре листовых эксплантов *C. maritima* на питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л кинетин, визуально обнаруживались на 12–14 сутки культивирования. Каллус начинал образовываться в местах среза, а также на поверхности листовых сегментов. Формирующийся каллус отличался средней плотностью и характеризовался светло-зеленой окраской. Через 45 суток культивирования размер сформировавшегося каллуса был достаточный для переноса на свежую питательную среду (рис. 1).

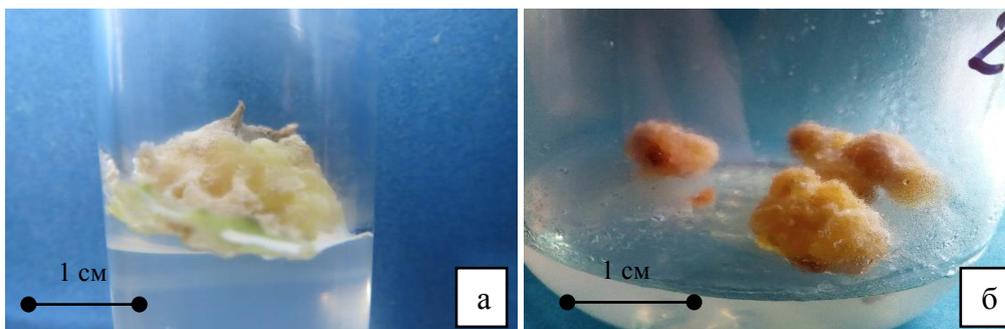


Рис. 1. Первичный каллус (а) и пассируемый каллус (б) *Crambe maritima* L. (питательная среда Мурасиге и Скуга, содержащая 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л кинетина)

Цитологические исследования каллусных тканей 0-пассажа *C. maritima* позволили установить наличие в них клеток меристематического и паренхимного типов, а также трахеальных элементов (адвентивных трахеид) (рис. 2.).

Клетки меристематического типа первичного каллуса располагались крупными скоплениями в местах локализации трахеальных элементов (рис. 2, а), отличались небольшими размерами $21,3 \pm 2,7$ мкм, имели крупное ядро (рис. 2, б). Клетки паренхимного типа, составляющие основную массу каллуса, характеризовались значительно более крупными размерами – $123,5 \pm 5,4$ мкм, имели округлую форму, пристенно расположенную цитоплазму, мелкие ядра. В некоторых клетках паренхимного типа обнаруживались зерна запасного крахмала (рис. 2, в). Особо следует отметить выявленные нами в первичном каллусе меристематические узлы, центральная часть которых представлена активно делящимися клетками, а периферия – клетками паренхимного типа (рис. 2, г).

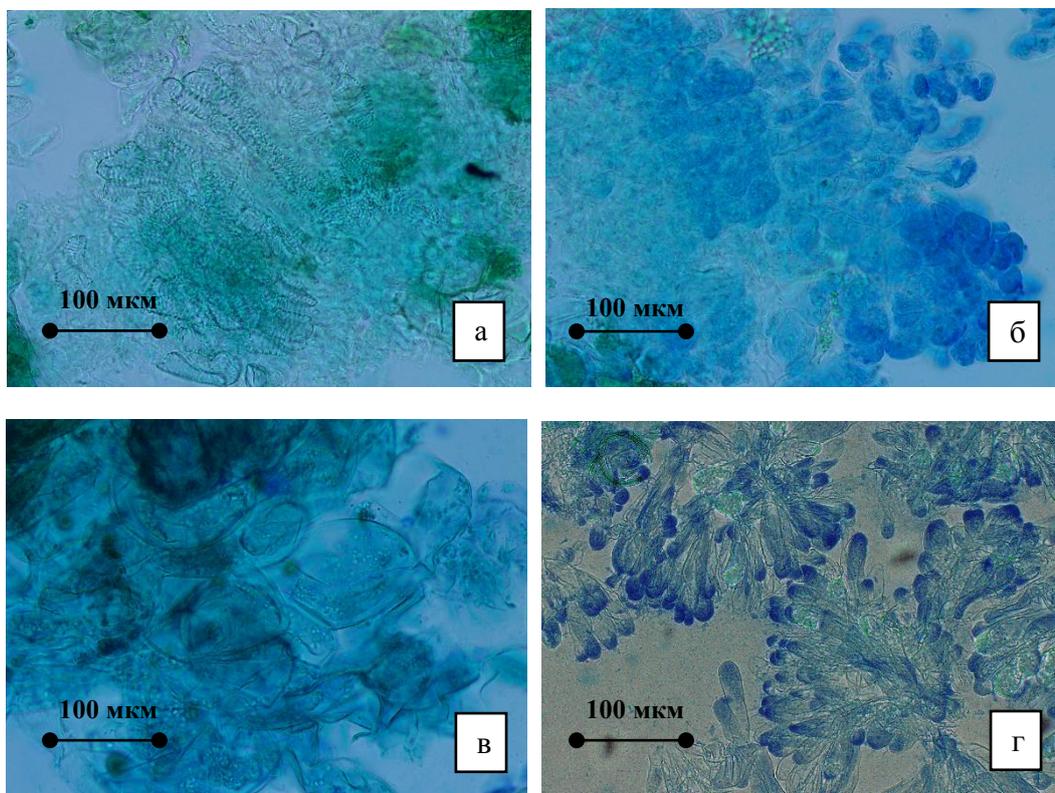


Рис. 2. Морфология клеток каллусной культуры *Crambe maritima* L. 0-пассажа: а – трахеальные элементы, б – клетки меристематического типа, в – клетки паренхимного типа, г – меристематические узлы

Исследования цитологических особенностей каллусных культур *C. maritima* I-пассажа выявили наличие клеток паренхимного типа различного размера, клеток

меристематического типа, а также трахеальных элементов (рис. 3). Размеры клеток меристематического типа достигали $23,7 \pm 1,9$ мкм, располагались они крупными скоплениями (рис. 3, а).

Клетки паренхимного типа характеризовались округлой формой и были представлены двумя классами, в зависимости от размера (рис. 3, б). Размеры клеток первого класса достигали $72,8 \pm 4,3$ мкм, второго класса – $211,4 \pm 8,1$ мкм. В цитоплазме некоторых клеток паренхимного типа более крупных размеров обнаруживались зерна запасного крахмала.

Трахеальные элементы располагались одиночно, небольшими группами и крупными скоплениями длиной $712,4 \pm 17,4$ мкм и шириной $194,7 \pm 4,3$ мкм, обеспечивая тем самым высокую плотность каллусной культуры (рис. 3, в, г).

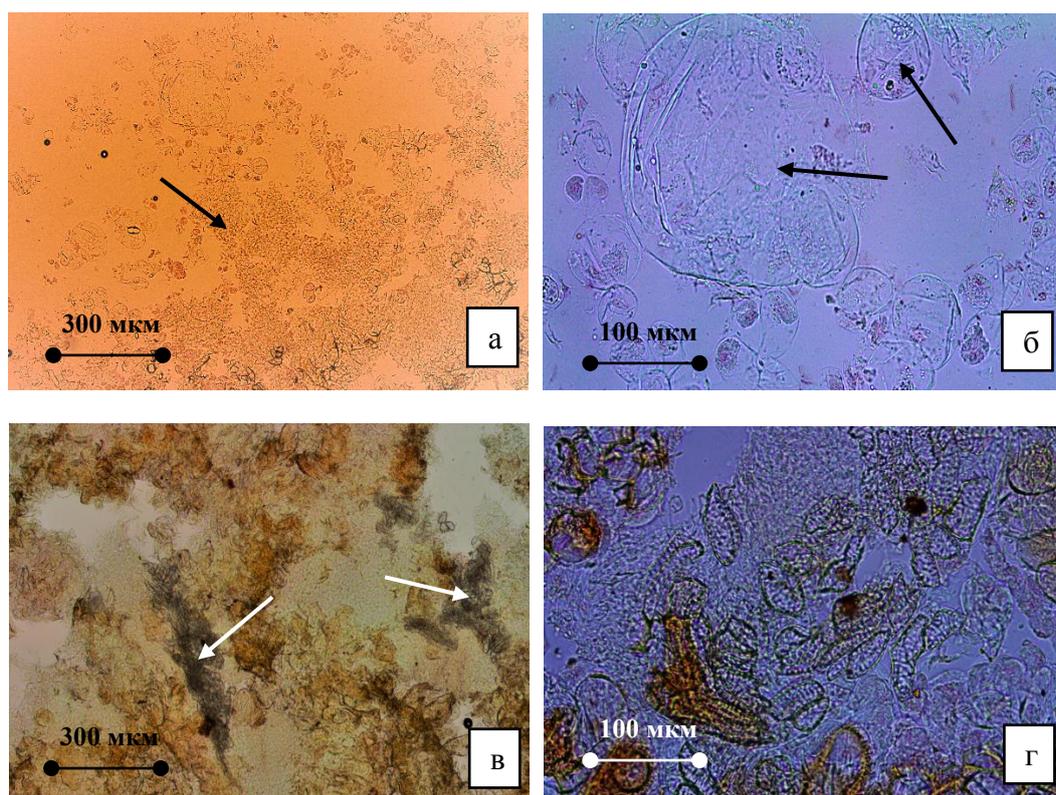


Рис. 3. Морфология клеток каллусной культуры *Crambe maritima* L. I-пассажа: а – общий вид клеток каллусной культуры, б – клетки паренхимного типа различного размера, в – скопления трахеальных элементов, г – трахеальные элементы.

Таким образом, проведенные нами исследования показали принципиальную возможность получения и дальнейшего пассирования каллусных культур *C. maritima* с использованием питательной среды Мурасиге и Скуга, дополненной

2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л кинетин. Выявленные цитологические особенности первичных каллусных культур, связанные с образованием меристематических узлов, свидетельствуют об активной пролиферации клеток, что проявляется в высокой интенсивности роста каллусных культур. Присутствие в первичном и пассируемом каллусе специализированных клеток паренхимного типа, выполняющих запасающие функции, может служить основанием для дальнейших исследований, связанных с разработкой приемов получения биологически активных веществ на основе каллусных и суспензионных культур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Подобраны условия индукции каллусообразования и дальнейшего пассирования каллуса *C. maritima* на питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л кинетин.
2. Выявлены цитологические особенности первичных и пассируемых каллусных культур *C. maritima*, показано присутствие в них клеток меристематического типа, клеток паренхимного типа, различающихся по размеру, а также трахеальных элементов.

Работа выполнена в рамках реализации проекта программы развития ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» на 2015–2024 годы: «Разработка новой междисциплинарной модульной магистерской программы «Биотехнология, биохимия и биоинформатика».

Список литературы

1. Красная книга Республики Крым: Растения, водоросли и грибы / отв. ред. А. В. Ена, А. В. Фатерьяга. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2015. – 480 с.
2. Михайлова О. А. Современное состояние популяций *Crambe maritima* L. в Крыму / О. А. Михайлова // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 5. – С. 94–101.
3. Bilz M. European Red List of Vascular Plants / M. Bilz, S. P. Kell, N. Maxted, R. V. Lansdown // Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2011. – P. 142.
4. Пушкарьова Н. О. Розробка способів мікроклонального розмноження та вивчення впливу культивування *in vitro* на біохімічні властивості та генетичну мінливість рослин рідкісних видів роду *Crambe*: дис... на здоб. наук. ступеня канд. біол. наук. / Пушкарьова Н. О. – 2017. – 155 с.
5. Adarsh Pal Vig Bio-protective effects of glucosinolates – A review / Adarsh Pal Vig, Geetanjali Rampal, Tarunpreet Singh Thind, Saroj Arora // LWT - Food Science and Technology. – 2009. – N 42. – P. 1561–1572.
6. Anushree Sanyal Biological Flora of the British Isles: *Crambe maritima* / Anushree Sanyal, Guillaume Decocq // Journal of Ecology. – 2015. – 103. – P. 769–788.
7. Drew R. L. K. Generation of Seakale (*Crambe maritima* L.) plantlets by tissue culture / R. L. K. Drew, Jane R. Fellows // Annals of Botany. – 1986. – V. 58. – P. 179–181.
8. Peron J. Y. *In vitro* propagation of *Crambe maritima* / J. Y. Peron, E. Regnier // Canadian Journal of Botany – 1987. – 65(1). – P. 72–75.
9. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук – К.: Наукова думка, 1980. – 488 с.
10. Murashige T. The revised medium for rapid growth, and bioassays with tobacco tissue culture / T. Murashige, F. A. Skoog // Phisiol. Plant. – 1962. – V.15, №13. – P. 473–497.

THE CALLUS CULTURES OF *CRAMBE MARITIMA* L. RECEIVE AND THEIR
CYTOLOGICAL CHARACTERISTICS

Bugara I. A., Omelchenko A. V., Gazel E. V., Kirilin K. O.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation
E-mail: bia.05@mail.ru

Crambe maritima L. belongs to the family of Brassicaceae. Natural distribution area of Northern, Central and Eastern Europe, the Mediterranean, the Black Sea coast of the Caucasus, the Republic of Crimea. Introduced *C. maritima* to the culture in the Botanical Garden of the Crimean Federal University named V.I. Vernadsky. *C. maritima* entered in the European Red List of Vascular Plants, a list of wild plants that can serve as a genetic material for improving valuable crops.

The interest of the practical application of *C. maritima* was founded on the biochemical features of the species associated with the content of potentially flavonoid glycosides and antimicrobial glucosinolates. In this connection, the development of biotechnological methods for obtaining cell cultures capable of synthesizing and accumulating biologically active substances, with the possibility of their subsequent use in the development of cosmetic and medicinal products, is topical.

When using the Murashige and Skoog medium supplemented with 2,0 mg/l of 2,4-D, 0,5 mg/l of 6-BAP and 0,5 mg/l of kinetin, the callus formation in leaf explant the *C. maritima* were visually detected on 12–14 days of cultivation. The emerging callus differed in average density and was a light green color.

The cytological studies showed that cells of meristematic type were located in large clusters in places of localization of tracheal elements, differed in small sizes $21,3 \pm 2,7 \mu\text{m}$, and a large nucleus. The cell size of the parenchymal type in primary callus was $123,5 \pm 54 \mu\text{m}$. Two classes, depending on the size, represented parenchymal cells of callus of the first passage. The sizes of the first class cells reached $72,8 \pm 4,3 \mu\text{m}$, the second class $211,4 \pm 8,1 \mu\text{m}$. We also showed the presence in the callus cultures of *C. maritima* 0-passage and I-passage of tracheal elements forming large clusters.

Keywords: *Crambe maritima* L., callus culture.

References

1. *Krasnaya kniga Respubliki Krym rasteniya vodorosli i griby*. Otv. Red. A. V. Ena, A. V. Fateryga, 480 p. (It. 'Arial', Simferopol, 2015).
2. Mihajlova O. A. *Sovremennoe sostoyanie populyacij Crambe maritima L. v Krymu*, Uchenye zapiski Tavricheskogo nacionalnogo universiteta im V. I. Vernadskogo, seriya-Biologiya, Himiya, **27 (66)**, **5**, 94 (2014).
3. Bilz M., Kell S. P., Maxted N., Lansdown R. V. *European Red List of Vascular Plants*, 134 p. (Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2011).
4. Pushkarova N. O. *Rozrobka sposobov mikroklonalnogo rozmnozheniya ta vivchennya vplivu kultivuvannya in vitro na biokhimichni vlastivosti ta genetichnu minlivist roslin ridkisnih vidiv rodu Crambe* (Dis. na zdob. nauk. stupenya kand. boil. nauk., 155, 2017).
5. Adarsh Pal Vig, Geetanjali Rampal, Tarunpreet Singh Thind, Saroj Arora *Bio-protective effects of glucosinolates – A review*, LWT – Food Science and Technology, **42**, 1561 (2009).

6. Anushree Sanyal, Guillaume Decocq Biological Flora of the British Isles: *Crambe maritima*, *Journal of Ecology*, **103**, 769 (2015).
7. Drew R. L. K., Jane R. Fellows Generation of Seakale (*Crambe maritima* L.) plantlets by tissue culture, *Annals of Botany*, **58**, 179 (1986).
8. Peron J. Y., Regnier E. In vitro propagation of *Crambe maritima*, *Canadian Journal of Botany*, **65 (1)**, 72 (1987).
9. Kalinin F. L., Sarnackaya V. V., Polishchuk V. E. *Metody kultury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij*, 488 p. (Naukova Dumka, Kiev, 1980).
10. Murashige T., Skoog F. A., Murashige T. The revised medium for rapid growth, and bioassays with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant*, **15 (13)**, 473 (1962).

УДК 631.46; 574

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КОРИЧНЕВЫХ КАРБОНАТНЫХ ПОЧВ КРЫМА К ЗАГРЯЗНЕНИЮ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ И НЕФТЬЮ

*Вернигорова Н. А., Кузина А. А., Моспаненко А. Ф., Казеев К. Ш.,
Акименко Ю. В., Колесников С. И.*

*ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону, Россия
E-mail: kolesnikov@sfedu.ru*

Коричневые почвы Крымского полуострова уникальны для России. Однако развитие транспортной и курортной инфраструктуры может вызвать усиление загрязнения почв. В результате модельных исследований установлено, что загрязнение ТМ и нефтью коричневой карбонатной почвы хромом, медью, никелем, свинцом и нефтью приводит к снижению ее биологической активности. По степени негативного влияния на биологические свойства коричневой карбонатной почвы тяжелые металлы образуют следующий ряд: $Cr > Cu \geq Pb \geq Ni$. Коричневые карбонатные почвы проявили себя как одни из наименее устойчивых почв Крымского полуострова к загрязнению тяжелыми металлами.

Ключевые слова: коричневые почвы, загрязнение, тяжелые металлы, нефть, биодиагностика.

ВВЕДЕНИЕ

На территории сухих дубовых и фисташковых лесов и можжевельникового редколесья горного Крыма распространены уникальные для России коричневые почвы.

В 2018 году завершается строительство автомобильного и железнодорожного мостов через Керченский пролив. Увеличение транспортного потока в Крым и развитие сопутствующей дорожной и курортной инфраструктуры может вызвать усиление загрязнения почв. Одной из приоритетных экологических проблем современности является химическое загрязнение почв. При этом пределы устойчивости коричневых карбонатных почв к химическому загрязнению не установлены.

Цель данной работы – оценить устойчивость коричневых карбонатных почв Крыма к химическому загрязнению (Pb, Cu, Cr, Ni, нефть) по биологическим показателям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) и нефтью моделировали в лабораторных условиях.

Объектом исследования была выбрана коричневая карбонатная почва, отобранная в Республике Крым, в окрестностях с. Кипарисного (44°36'19.74" N, 34°21'15.06" S). Для исследований отбирали верхнюю часть почвы 0–10 см.

Данная почва отличается тяжелосуглинистым гранулометрическим составом, относительно небольшим содержанием гумуса в верхнем горизонте – 1,7 %, средней оструктуренностью, нейтральной реакцией среды – $\text{pH} = 7,8$, средней биологической активностью (общая численность бактерий – 3,2 млрд/г почвы, активность каталазы – 6,3 мл O_2 /г почвы за 1 мин, активность дегидрогеназы – 10,1 мг ТФФ/10 г почвы за 24 часа, обилие бактерий рода *Azotobacter* – 45 % комочков обрастания).

В качестве загрязняющих веществ были выбраны нефть и ТМ: оксид свинца (PbO), оксид хрома (CrO_3), оксид никеля (NiO) и оксид меди (CuO). Данные ТМ считаются приоритетными загрязнителями на Юге России [1, 2]. Кроме того, эти ТМ интересны для сравнения: их предельно допустимые концентрации (ПДК) составляют 100 мг/кг почвы. Использовали значения ПДК, разработанные в Германии [3]. Во-первых, потому, что ПДК в почве общего (валового) содержания меди и никеля в России отсутствуют. Во-вторых, «российская» ПДК свинца зачастую не может быть использована, так как меньше содержания этого элемента во многих почвах.

ПДК в почве нефти также не разработана, поэтому ее содержание в почве выражали в процентах.

ТМ вносили в почву в количестве 1, 10, 100 ПДК (100, 1000 и 10000 мг/кг соответственно), нефть – 1, 5, 10 % от массы почвы. Содержание ТМ в почве до 100 и даже более ПДК нередко встречается в районах предприятий металлургической, химической и топливной промышленности.

Использовали оксиды ТМ: CrO_3 , CuO , NiO , PbO . Во-первых, значительная доля ТМ поступает в почву именно в форме оксидов [4]. Во-вторых, использование оксидов ТМ позволяет исключить воздействие на свойства почвы сопутствующих анионов, как это происходит при внесении солей металлов.

Почву инкубировали в вегетационных сосудах при комнатной температуре (20–22 °С) и оптимальном увлажнении (60 % от полевой влагоемкости) в трехкратной повторности.

Биологические свойства почвы определяли через 30 суток после загрязнения. При оценке химического воздействия на биологическое состояние почвы этот срок является наиболее информативным [5].

Лабораторно-аналитические исследования были выполнены с использованием общепринятых методов [6, 7]. Определяли общую численность бактерий, обилие бактерий рода *Azotobacter*, активность каталазы и дегидрогеназы, целлюлозолитическую активность, фитотоксические свойства почвы. Общую численность бактерий в почве учитывали методом люминесцентной микроскопии по Звягинцеву, Кожевину, *Azotobacter* – методом комочков обрастания на среде Эшби, целлюлозолитическую способность – по степени разложения хлопчатобумажного полотна, активность каталазы – по методике Галстяна, дегидрогеназы – по методике Галстяна в модификации Хазиева, о фитотоксичности почв судили по изменению длины корней редиса.

На основе вышеперечисленных биологических показателей определяли интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы.

Представленный набор показателей дает информативную картину протекающих в почве биологических процессов и ее экологического состояния.

Для расчета ИПБС значение каждого из указанных выше показателей на контроле (в незагрязненной почве) принимали за 100 % и по отношению к нему выражали в процентах значения в остальных вариантах опыта (в загрязненной почве). Затем определяли среднее значение пяти выбранных показателей для каждого варианта опыта. Полученное значение (ИПБС) выражено в процентах по отношению к контролю (к 100 %). Используемая методика позволяет интегрировать относительные значения разных показателей, абсолютные значения которых не могут быть интегрированы, так как имеют разные единицы измерения.

Для проверки полученных данных на достоверность был проведен дисперсионный анализ с последующим определением наименьшей существенной разности (НСР).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования установлено, что загрязнение ТМ и нефтью коричневой карбонатной почвы хромом, медью, никелем, свинцом и нефтью приводит к ухудшению биологических показателей: общей численности бактерий, активности каталазы и дегидрогеназы, целлюлозолитической активности, обилия бактерий рода *Azotobacter*, длины корней редиса, ИПБС (рис. 1–7).

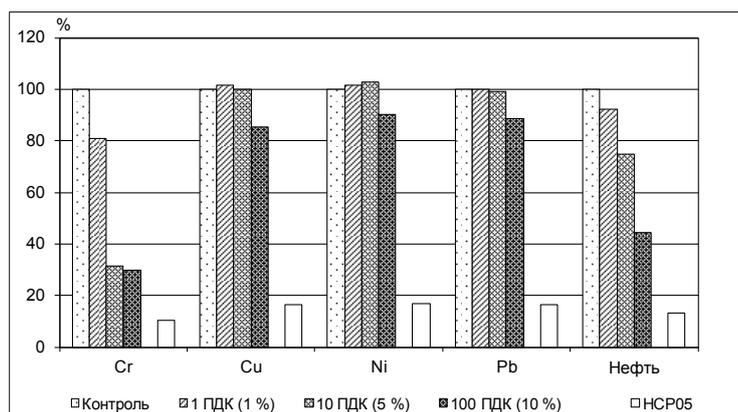


Рис. 1. Влияние химического загрязнения на активность каталазы коричневой карбонатной почвы, % от контроля

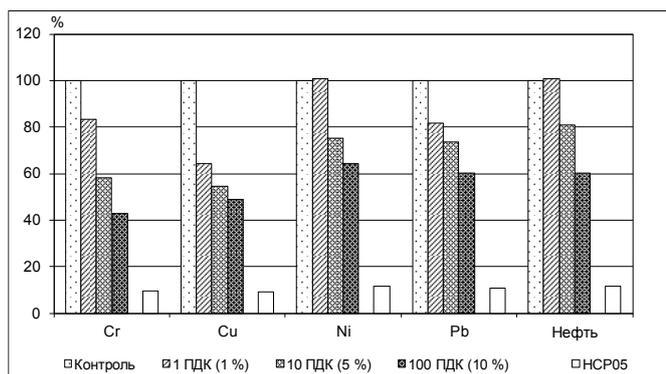


Рис. 2. Влияние химического загрязнения на активность дегидрогеназы коричневой карбонатной почвы, % от контроля

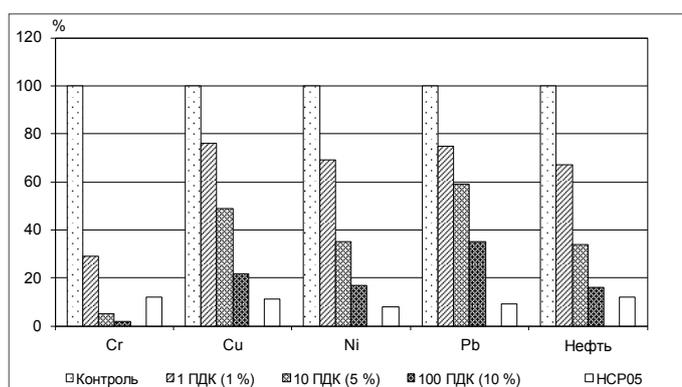


Рис. 3. Влияние химического загрязнения на целлюлозолитическую активность коричневой карбонатной почвы, % от контроля

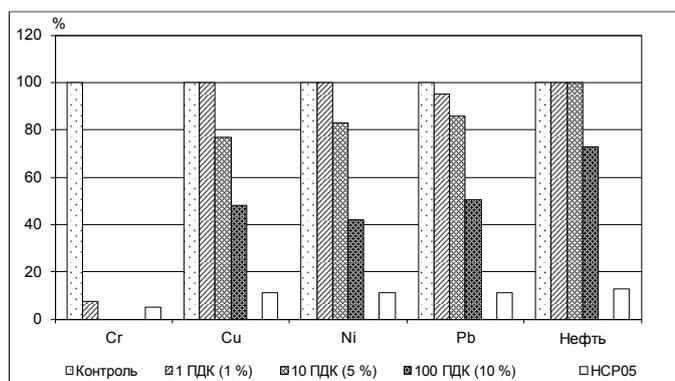


Рис. 4. Влияние химического загрязнения на численность бактерий рода *Azotobacter* в коричневой карбонатной почве, % от контроля

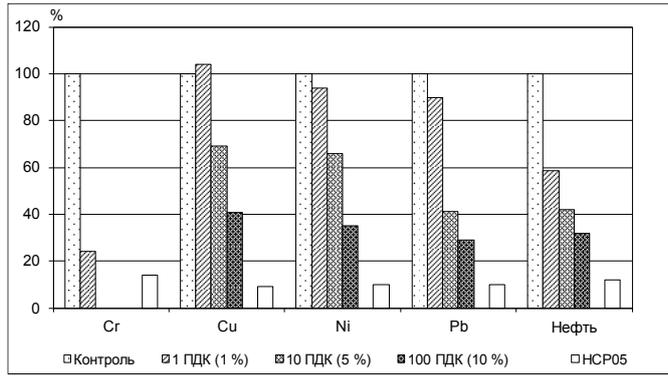


Рис. 5. Влияние химического загрязнения на фитотоксичность коричневой карбонатной почвы, % от контроля

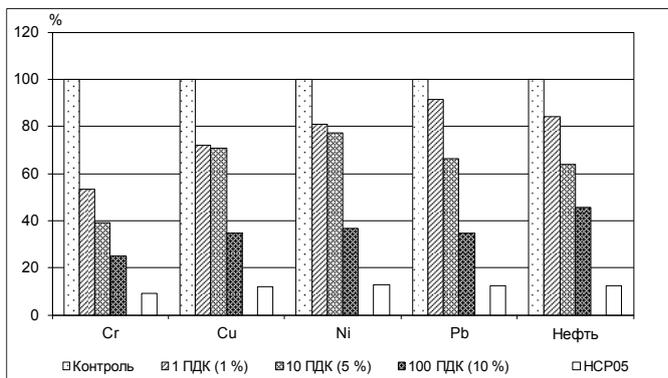


Рис. 6. Влияние химического загрязнения на численность бактерий в коричневой карбонатной почве, % от контроля

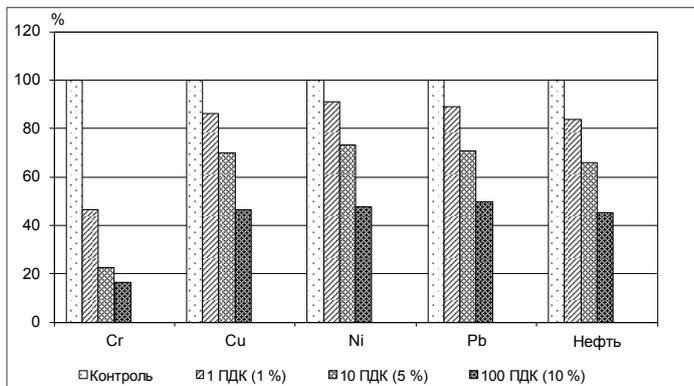


Рис. 7. Влияние химического загрязнения на интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) коричневой карбонатной почвы, % от контроля

Установлена прямая зависимость степени снижения исследуемых показателей от концентрации загрязняющих веществ и их природы.

Так как концентрации тяжелых металлов были выбраны одинаковые (1 ПДК=100 мг/кг почвы), то возможно их сопоставление. Был получен ряд токсичности ТМ для биологических показателей коричневой карбонатной почвы: $Cr > Cu \geq Pb \geq Ni$. Оксид хрома по сравнению с другими ТМ оказал наибольшее токсическое действие. Подобная закономерность была выявлена ранее в исследованиях с другими почвами Причерноморья и Приазовья России [8, 9].

Коричневые карбонатные почвы проявили себя как одни из наименее устойчивых почв Крыма к загрязнению ТМ и нефтью. Более уязвимыми оказались только бурые лесные почвы. Это связано, прежде всего, с низким содержанием гумуса. В результате ТМ слабо закрепляются в почве, остаются подвижными и в значительной степени проявляют свои токсические и ингибирующие свойства по отношению к микроорганизмам, растениям и ферментам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Загрязнение коричневой карбонатной почвы Крымского полуострова нефтью, оксидами хрома, никеля, меди и свинца ухудшает ее биологические свойства. Наблюдается снижение активности каталазы и дегидрогеназы, общей численности бактерий, обилия бактерий рода *Azotobacter*, целлюлозолитической способности, ухудшаются показатели прорастания и начального роста редиса.

Отмечена прямая зависимость между содержанием в почве загрязняющего вещества и степенью снижения биологических показателей.

По степени негативного влияния на биологические свойства коричневой карбонатной почвы ТМ образуют следующий ряд: $Cr > Cu \geq Pb \geq Ni$.

Коричневые карбонатные почвы проявили себя как одни из наименее устойчивых почв Крыма к загрязнению ТМ и нефтью. Более уязвимыми оказались только бурые лесные почвы. Это связано, прежде всего, с низким содержанием гумуса.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (5.5735.2017/8.9) и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-3464.2018.11).

Список литературы

1. Алексеенко В. А. Металлы в окружающей среде. Прибрежные аквальные ландшафты Черноморского побережья России / В. А. Алексеенко, А. В. Суворинов, Е. В. Власова. – М.: ФГБНУ НИИ ПМТ, 2012. – 360 с.
2. Дьяченко В. В. Геохимия, систематика и оценка состояния ландшафтов Северного Кавказа / В. В. Дьяченко – Ростов н/Д.: Издательский центр «Комплекс», 2004. – 268 с.
3. Касьяненко А. А. Контроль качества окружающей среды / А. А. Касьяненко – М.: Изд-во РУДН, 1992. – 136 с.
4. Kabata-Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants / Kabata-Pendias A., fourth ed. – CRC Press, Boca Raton FL. – 2011. – 505 p.

5. Колесников С. И. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на эколого-биологические свойства чернозема обыкновенного / С. И. Колесников, К. Ш. Казеев, В. Ф. Вальков // Экология. – 2000. – № 3. – С. 193–201.
6. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред. Д. Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
7. Казеев К. Ш. Биодиагностика почв: методология и методы исследований / К. Ш. Казеев, С. И. Колесников. – Южный федеральный университет – Ростов н/Д: Изд-во Южного федерального университета, 2012. – 380 с.
8. Колесников С. И. Влияние загрязнения нефтью и тяжелыми металлами на биологические свойства желтозема / С. И. Колесников, А. А. Кузина, Н. А. Вернигорова, К. Ш. Казеев, Ю. В. Акименко // Агрохимия. – 2016. – № 11. – С. 58–64.
9. Колесников С. И. Оценка устойчивости бурых лесных оподзоленных почв черноморского побережья Кавказа к химическому загрязнению / С. И. Колесников, А. А. Кузина, Н. А. Евстегнеева, К. Ш. Казеев // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия «Естественные науки». – 2016. – № 1 (189). – С. 66–70.

ASSESSMENT OF RESISTANCE OF BROWN CARBONATE SOILS OF THE CRIMEA TO POLLUTION BY HEAVY METALS AND OIL

Vernigorova N. A., Kuzina A. A., Mospanenko A. F., Kazeev K. Sh., Akimenko Yu. V., Kolesnikov S. I.

*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia
E-mail: kolesnikov@sfedu.ru*

Brown soils of the Crimean peninsula are unique for Russia. However, the development of transport and resort infrastructure can cause increased pollution of soils. The limits of stability of brown carbonate soils to chemical contamination have not been established.

Pollution by heavy metals and oil was modeled in the laboratory. The object of the study was chosen brown carbonate soil, selected in the Republic of Crimea, in the vicinity of the village Kiparisnoe. Oil and heavy metals were chosen as chemical contaminants: lead oxide (PbO), chromium oxide (CrO₃), nickel oxide (NiO) and copper oxide (CuO). Heavy metals were introduced into the soil in the amount of 1, 10, 100 MPC (100, 1000 and 10,000 mg / kg, respectively), oil – 1, 5, 10 % of the mass of the soil. The content of heavy metals in the soil up to 100 or even more than MPC is often found in the areas of enterprises of the metallurgical, chemical and fuel industries. The soil was incubated in vegetative vessels at room temperature (20–22 °C) and optimal moistening (60 % of the field moisture capacity) in triplicate. Biological properties of soil were determined 30 days after contamination.

In this study, the total numbers of bacteria, the abundance of bacteria of the genus *Azotobacter*, the activity of catalase and dehydrogenase, cellulolytic activity, phytotoxic properties of the soil were determined. The total number of bacteria in the soil was taken into account by the method of luminescent microscopy according to Zvyagintsev, Kozhevnikov, *Azotobacter* by the method of fouling clusters on Ashby medium, cellulolytic ability by the degree of decomposition of cotton cloth, catalase activity by Galstyan's

method, dehydrogenase by Galstyan's method in Haziev's modification, phytotoxicity. Soils were judged by the change in the length of the roots of the radish.

On the basis of the above biological indicators, the integral index of the biological state of the soil was determined. The presented set of indicators gives an informative picture of the biological processes taking place in the soil and its ecological state.

As a result of model studies it has been established that contamination of TM and oil of brown carbonate soil by chromium, copper, nickel, lead and oil leads to a decrease in biological activity. The total number of bacteria decreases, the activity of catalase and dehydrogenase, cellulolytic ability, the abundance of bacteria of the genus *Azotobacter*, the phytotoxic properties of the soil are enhanced.

By the degree of negative influence on the biological properties of the brown carbonate soil, heavy metals form the following series: $Cr > Cu \geq Pb \geq Ni$. Brown carbonate soils have proved to be one of the least resistant soils to contamination with heavy metals.

Keywords: brown soils, pollution, heavy metals, oil, biodiagnostics.

References

1. Alekseenko V. A., Suvorinov A. V., Vlasova E. V. *Metals in the environment. Coastal aquatic landscapes of the Black Sea coast of Russia*. 360 p. (Moscow, 2012).
2. Dyachenko V. V. *Geochemistry, systematics and assessment of the state of landscapes of the North Caucasus*. 268 p. (Rostov-on-Don, 2004).
3. Kasyanenko A. A. *Environmental quality control*, 136 p. (Moscow, 1992).
4. Kabata-Pendias A. *Trace Elements in Soils and Plants*. 4th Edition., 548 p. (Boca Raton, FL: Crc Press, 2011).
5. Kolesnikov S. I., Kazeev K. Sh., Valkov V. F. Influence of pollution by heavy metals on the ecological and biological properties of the chernozem of the common-vein, *Ecology*, **3**, 193 (2000).
6. *Soil Microbiology and Biochemistry Methods*, Zvyagintsev D. G. (Ed.), 304 p. (Moscow, 199).
7. Kaseyev K. Sh., Kolesnikov S. I. *Biodiagnosis of soils: methodology and methods of research*, 260 p. (Rostov-on-Don, 2012).
8. Kolesnikov S. I., Kuzina A. A., Vernigorova N. A., Kazeev K. Sh., Akimenko Yu. V. Influence of pollution by oil and heavy metals on the biological properties of yellow earth, *Agrochemistry*, **11**, 58 (2016).
9. Kolesnikov S. I., Kuzina A. A., Evstegneeva N. A., Kazeev K. Sh. Assessment of the stability of brown forest podzolized soils of the Black Sea coast of the Caucasus to chemical pollution. *News of higher educational institutions. North-Caucasian region. Series: Natural Sciences*. **1**, **189**, 66 (2016).

УДК 612.019: 796/799

УРОВЕНЬ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ И РАЗВИТИЕ ДВИГАТЕЛЬНЫХ КАЧЕСТВ У ДЕТЕЙ СРЕДНЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА В ГОРОДСКОЙ И СЕЛЬСКОЙ ШКОЛЕ

Грабовская Е. Ю., Белозуб Н. В., Архангельская Е. В.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: grabovskaya13@mail.ru*

Изучен уровень развития основных двигательных качеств и уровень физической подготовленности у детей среднего школьного возраста, обучающихся в городской и сельской школе. Было обследовано 85 детей, мальчиков и девочек. Для оценки уровня физической подготовленности детей среднего школьного возраста избрали «Президентские состязания», которые включают, в частности, спортивное многоборье. Проведенные исследования показали, что у детей городской и сельской школы уровень физической подготовленности и развитие основных двигательных качеств находятся на разном уровне.
Ключевые слова: физическая подготовленность, двигательные качества, средний школьный возраст, городская школа, сельская школа.

ВВЕДЕНИЕ

Проблеме физической подготовки и возрастного развития физических качеств школьников посвящены работы специалистов в области физической культуры [1, 2], считающих, что двигательная подготовленность является важным компонентом здоровья учащихся, а ее улучшение – одной из главных задач физического воспитания в школе. Многие авторы отмечают, что физическое воспитание детей школьного возраста эффективно стимулирует положительные функциональные и морфологические изменения в формирующемся организме и активно влияет на развитие двигательных способностей [3, 4].

В настоящее время под физической подготовленностью понимают состояние человека, которое приобретает в результате физической подготовки и характеризуется высокой физической работоспособностью, хорошим развитием физических качеств, разносторонним двигательным опытом. Каждый школьник должен знать свою медицинскую группу, физическое развитие, уровень физической подготовленности. Человек, имеющий хорошую физическую подготовленность, обладает достаточной устойчивостью к стрессовым ситуациям, к воздействию неблагоприятных условий внешней среды и различным заболеваниям. У него хорошо развиты системы дыхания, кровообращения и энергообмена. Внимание, память и мышление устойчивы и менее подвержены процессу утомления. Все эти свойства позволяют человеку достигать высоких результатов в учебной трудовой и

соревновательной деятельности [3]. Высокая физическая работоспособность достигается развитием физических (двигательных) качеств человека. Основными физическими качествами являются быстрота, сила, выносливость, гибкость, ловкость (координация).

Рост учебной нагрузки, значительное снижение двигательной активности детей и подростков во внеурочное время, снижение количества школьников, посещающих дополнительные физкультурно-спортивные мероприятия, приводят к ухудшению физических кондиций и снижению физической подготовленности современных школьников по сравнению с их сверстниками 20–30 лет назад [5]. Физическая подготовка подрастающего поколения возлагается в настоящее время в основном на школу. Для большинства школьников уроки физической культуры являются не только основной, но часто и единственной формой их физического воспитания [5, 6]. Многочисленные исследователи пишут о том, что в современной школе совершенствуются образовательные системы физической подготовки, внедряются инновационные технологии обучения, разнообразнее используется современное спортивное оборудование, квалифицированное осуществляется подготовка профессиональных специалистов в данной области деятельности, но тем не менее физическая подготовка выпускников средних школ остается на низком уровне [5].

В настоящее время исследованием данной проблемы занимаются многие специалисты, пытающиеся найти новые возможности качественного улучшения физической подготовленности обучающихся [7, 8]. К сожалению, школьная практика показывает, что уровень состояния физической подготовленности и результаты физической активности школьников, обучающихся в городской и сельской школах разные. В связи с этим возникла проблема практического исследования состояния физической подготовленности учащихся среднего школьного возраста обучающихся в разных школах: городской и сельской.

Цель работы – изучить и оценить уровень физической подготовленности детей среднего школьного возраста, обучающихся в городской и сельской школе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовательская часть работы проводилась на базе двух школ: городской и сельской. Было обследовано 85 детей среднего школьного возраста: 45 детей, обучающихся в городской школе, занимались дополнительно спортом, а 40 школьников, обучающихся в сельской школе, спортом не занимались.

В дальнейшем обучающиеся городской школы были разделены на 4 подгруппы в соответствии с возрастными и гендерными признаками: 1 группа (Г-1) – мальчики 7 класса, 2 группа (Г-2) – мальчики 8 класса, 3 группа (Г-3) – девочки 7 класса, 4 группа (Г-4) – девочки 8 класса. Обучающиеся из сельской школы аналогичным образом были разделены на 4 подгруппы: 5 группа (Г-5) – мальчики 7 класса, 6 группа (Г-6) – мальчики 8 класса, 7 группа (Г-7) – девочки 7 класса, 8 группа (Г-8) – девочки 8 класса. Возраст всех обследуемых школьников – 12–14 лет. Вес испытуемых-мальчиков составил 45–70 кг, рост – 150–176 см. Вес испытуемых-девочек составил 40–60 кг, рост – 140–168 см. Все обследуемые имели медицинский

допуск к занятиям физической культурой и спортом. Исследования проводились в школах на уроках физической культуры.

В группах обследуемых проводилась оценка уровня физической подготовленности. Оценивались основные физические качества организма: сила, быстрота, гибкость, выносливость, ловкость (координационные способности).

Для оценки уровня физической подготовленности детей среднего школьного возраста избрали «Президентские состязания», которые включают, в частности, спортивное многоборье (тесты). Для оценки скоростных способностей использовали показатель «бег на 30 метров» (Б30М); силовых способностей – показатель «подтягивание на перекладине» (ПШер.); ловкости (координационных способностей) – показатель «челночный бег 3x10 метров» (ЧБ); скоростно-силовых способностей – показатель «прыжок в длину с места» (ПДМ); гибкости – показатель «наклоны вперед» (НВ); выносливости – показатель «шестиминутный бег» (ШБ). Эти виды упражнений соответствуют тестам, определенным в Указе Президента РФ № 948 от 30 июля 2010 г. «О проведении всероссийских спортивных соревнований (игр) школьников» [9], Постановлении Правительства РФ от 29. 12. 2001 г. № 916 «Об общероссийской системе мониторинга состояния физического здоровья населения, физического развития детей, подростков и молодежи» [10].

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excel и программного пакета «STATISTICA 10.0». Использовались параметрические методы, достоверность различий полученных результатов определялась с помощью t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что у детей городской и сельской школы уровень физической подготовленности и развитие основных двигательных качеств находятся на разном уровне. Так, показатель «бег на 30 м», характеризующий скоростные качества обучающихся из двух разных школ, был следующим: у мальчиков 7 класса городской школы (Г-1) он составил $4,84 \pm 0,11$ с, что указывает на более высокий уровень развития скоростных способностей в сравнении с их сверстниками из сельской школы (Г-5), где показатель был несколько хуже – $5,16 \pm 0,09$ с. Показатели группы Г-1 соответствуют высокому уровню подготовленности, а группы Г-5 являются показателями среднего уровня подготовленности. Разница показателей между группами Г-1 и Г-5 составила 6,6 % ($p < 0,05$) (рис. 1). У девочек этого же возраста городской школы (Г-3) показатель составил $5,18 \pm 0,06$ с, что соответствует высокому уровню подготовленности, а у девочек сельской школы (Г-7) показатель был хуже на 5,4 % ($p > 0,05$) и составил $5,46 \pm 0,07$ с, что свидетельствует о среднем уровне подготовленности (рис. 1). Полученные результаты говорят о том, что у мальчиков и девочек 7 класса, обучающихся в городской школе, скоростные способности развиты лучше и достигают высокого уровня подготовленности.

Величина показателя «бег на 30 м» у мальчиков 8 класса городской школы (Г-2) составила $4,86 \pm 0,10$ с, а у мальчиков сельской школы (Г-6) – $4,70 \pm 0,08$ с. Это

свидетельствует о высоком уровне развития скоростных способностей и высоком уровне подготовленности (рис. 1). У девочек городской (Г-4) и сельской школы (Г-8) исследуемый показатель практически не отличался и составил $5,40 \pm 0,24$ с и $5,44 \pm 0,14$ с соответственно, что свидетельствует о среднем уровне подготовленности. Следовательно, можно говорить о том, что у детей среднего школьного возраста высокий и средний уровень развития скоростных способностей. Причем самые высокие показатели зафиксированы у мальчиков и девочек 7 класса городской школы (группы Г-1 и Г-3) по сравнению с детьми сельской школы. Уровень подготовленности этих школьников соответствует высокому. У детей 8 класса существенных различий в уровне развития скоростных способностей не обнаружено, их уровень подготовленности соответствует среднему.

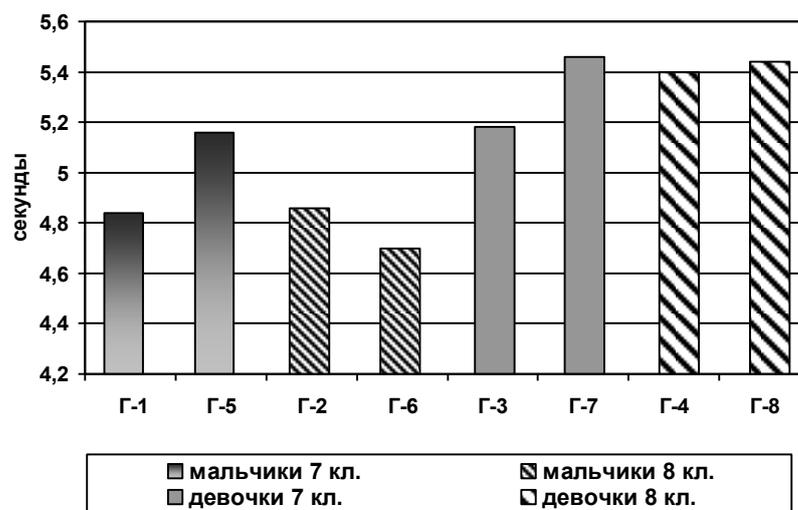


Рис. 1. Величина показателя «бег на 30 м» (секунды) у мальчиков и девочек 7–8 классов городской и сельской школ

Примечания здесь и далее: Г-1 – мальчики 7 класса городской школы, Г-2 – мальчики 8 класса городской школы, Г-3 – девочки 7 класса городской школы, Г-4 – девочки 8 класса городской школы, Г-5 – мальчики 7 класса сельской школы, Г-6 – мальчики 8 класса сельской школы, Г-7 – девочки 7 класса сельской школы, Г-8 – девочки 8 класса сельской школы

Уровень развития силовых способностей у детей среднего школьного возраста, обучающихся в городской и сельской школе, также оказался различным. Величина показателя «подтягивания на перекладине» у мальчиков 7 класса городской школы (Г-1) составила $2,0 \pm 0,1$ раз, сельской школы (Г-5) – $1,0 \pm 0,2$ раз, что соответствует низкому уровню подготовленности. При этом разница показателей в группе Г-1 и Г-5 составила 67 % ($p \leq 0,01$) (рис. 2). Таким образом, уровень развития силовых способностей у мальчиков 7 класса городской гимназии достоверно выше, чем у обучающихся сельской школы. Однако несмотря на это уровень развития силовых способностей в обеих группах очень низкий. У девочек 7 класса городской школы

(Г-3) показатель «отжимание от пола» составил $11,6 \pm 0,8$ раз, что соответствует среднему уровню подготовленности, а у девочек сельской школы (Г-7) – $5,0 \pm 1,0$ раз, что соответствует низкому уровню подготовленности. Разница между группами Г-3 и Г-7 составила 80 % ($p \leq 0,01$) (рис. 2). По всей вероятности, именно занятия спортом могли привести к более существенному развитию силы у девочек 7 класса городской школы.

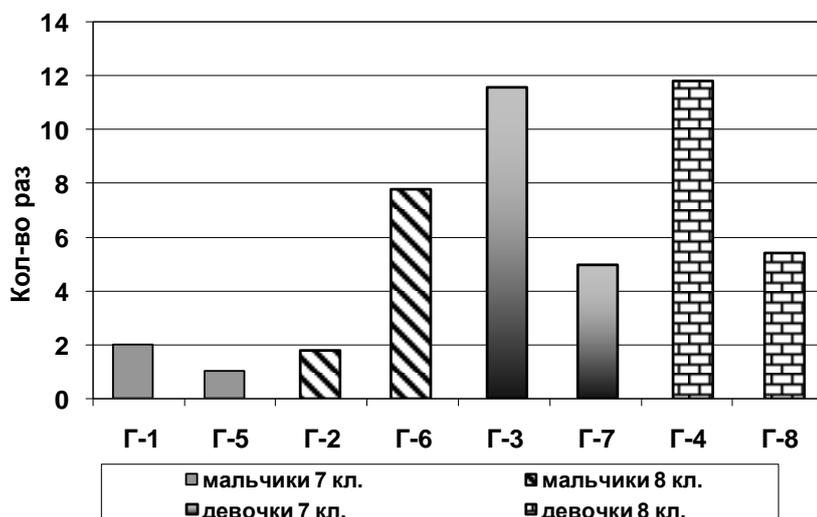


Рис. 2. Величина показателя «подтягивания на перекладине» (мальчики, кол-во раз) и «отжимание от пола» (девочки, кол-во раз) у обучающихся 7–8 классов городской и сельской школ

Величина показателя «подтягивания на перекладине» у мальчиков 8 класса городской школы (Г-2) составила $1,8 \pm 0,3$ раз, что говорит о низком уровне подготовленности. У мальчиков сельской школы (Г-6) этот показатель был гораздо выше (на 136 %, $p \leq 0,001$) и составил $7,8 \pm 0,6$ раз, что свидетельствует о среднем уровне подготовленности (рис. 2). Следовательно, силовая подготовка у мальчиков 8 класса сельской школы значительно лучше, чем в городской школе. Показатель «отжимание от пола» у девочек 8 класса городской школы (Г-4) составил $11,8 \pm 0,9$ раз, что соответствует среднему уровню подготовленности, а в сельской школе (Г-8) – $5,4 \pm 0,7$ раз, этот показатель соответствует «низкому» уровню силовой подготовленности. Разница между группами Г-4 и Г-8 составила 78 % ($p \leq 0,01$). Таким образом, исследования показали низкий и средний уровень развития силовых способностей у детей среднего школьного возраста. Причем самый высокий показатель зафиксирован у мальчиков 8 класса сельской школы (Г-6). У девочек 7 и 8 классов городской школы (группы Г-3 и Г-4) уровень развития силовых способностей также достаточно высокий и соответствует среднему уровню

физической подготовленности. В остальных группах показатели силовых способностей соответствуют низкому уровню подготовленности.

Исследования показали наличие достаточно широкого диапазона уровня развития координационных способностей у детей среднего школьного возраста, обучающихся в городской и сельской школах. Координационные способности у обучающихся проверялись по показателю «челночный бег 3х10 м». Так, у мальчиков 7 класса городской школы (Г-1) показатель составил $8,0 \pm 0,1$ с, что свидетельствует о высоком уровне подготовленности, а у мальчиков сельской школы (Г-5) показатель был несколько хуже и составил $8,7 \pm 0,1$ с, что соответствует среднему уровню развития координационных способностей. Разница показателей в группах Г-1 и Г-5 составила 8 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3).

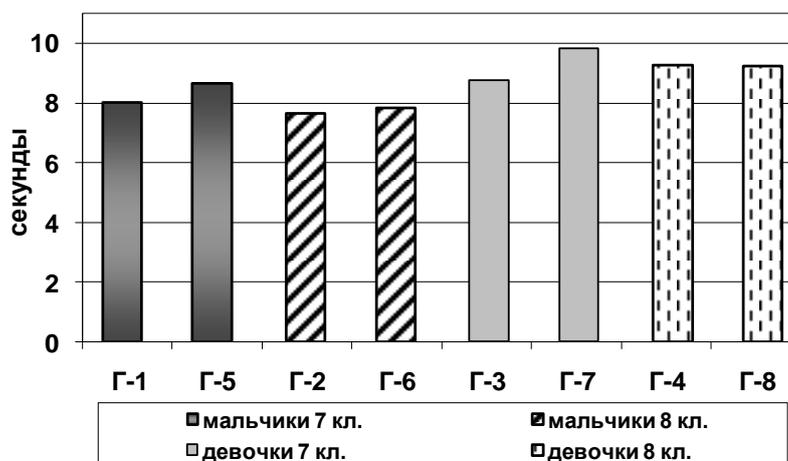


Рис. 3. Величина показателя «челночный бег 3х10 м» (секунды) у мальчиков и девочек 7–8 классов городской и сельской школы

У девочек городской школы (Г-3) показатель составил $8,8 \pm 0,3$ с, что свидетельствует о высоком уровне подготовленности, а в сельской школе (Г-7) – $9,8 \pm 0,2$ с, что свидетельствует о низком уровне развития координационных способностей (рис. 3). Разница между группами Г-3 и Г-7 составила 12,3 % ($p \leq 0,05$). Таким образом, у школьников 7 класса городской школы – и мальчиков, и девочек – координационные способности развиты лучше и достигают «высокого» уровня подготовленности. У мальчиков 8 класса и городской школы (Г-2), и сельской школы (Г-6) показатель был практически на одном уровне и составил $7,7 \pm 0,2$ с и $7,8 \pm 0,1$ с соответственно. В обеих группах уровень развития координационных способностей высокий (рис. 3). У девочек 8 класса и городской школы (Г-4), и сельской школы (Г-8) исследуемый показатель также практически не отличается и свидетельствует о среднем уровне развития их координационных способностей. Величина показателя составила $9,3 \pm 0,4$ с и $9,2 \pm 0,1$ с соответственно (рис. 3). Таким

образом, исследования показали, что у детей среднего школьного возраста, обучающихся в 7 и 8 классах, отмечается высокий, средний и низкий уровень развития координационных способностей. Высокие показатели зафиксированы у мальчиков и девочек 7 класса городской школы (группы Г-1 и Г-3) в сравнении с детьми сельской школы. Уровень подготовленности этих школьников соответствует высокому. У мальчиков 8 класса как в городской, так и в сельской школе существенных различий в уровне развития координационных способностей не обнаружено, их уровень подготовленности соответствует высокому. У девочек 8 класса также зафиксирован практически одинаковый уровень развития координационных способностей, который соответствует среднему уровню подготовленности.

Уровень развития скоростно-силовых способностей у детей среднего школьного возраста определялся с помощью теста «прыжок в длину с места». Показатель у мальчиков 7 класса городской школы (Г-1) составил $166,8 \pm 5,4$ см, что указывает на средний уровень развития скоростно-силовых способностей. У их сверстников из сельской школы (Г-5) величина показателя была несколько хуже и составила $160,4 \pm 4,1$ см, что также показывает средний уровень развития скоростно-силовых способностей. Разница показателей в группе Г-1 и в группе Г-5 составила 4 % ($p > 0,05$) (рис. 4).

Показатель у девочек 7 класса городской школы (Г-3) составил $156,6 \pm 1,8$ см, что соответствует среднему уровню, а у девочек сельской школы (Г-7) – $140,0 \pm 2,9$ см, что характеризует низкий уровень развития силовых способностей. Разница между группами Г-3 и Г-7 достигла 11 % ($p \leq 0,01$) (рис. 4). Полученные результаты свидетельствуют о том, что у мальчиков из обеих школ скоростно-силовые способности находятся на среднем уровне, а вот у девочек ситуация иная: в городской школе у девочек скоростно-силовые способности развиты лучше и достигают среднего уровня подготовленности, а у девочек сельской школы показатель находится на низком уровне.

У мальчиков 8-х классов в городской школе (Г-2) показатель составил $201,0 \pm 2,7$ см, в сельской школе (Г-6) показатель был ниже на 5 % ($p > 0,05$) и составил $191,6 \pm 3,3$ см. В обеих группах это соответствует среднему уровню развития скоростно-силовых способностей (рис. 4). У девочек 8 класса городской школы (Г-4) исследуемый показатель составил $155,0 \pm 1,3$ см, что свидетельствует о среднем уровне подготовленности, а у девочек сельской школы (Г-8) прыжок в длину с места был гораздо хуже (на 9 %, $p \leq 0,05$) и составил $141,8 \pm 1,1$ см, что указывает на низкий уровень подготовленности. Таким образом, исследования показали, что у детей среднего школьного возраста – средний и низкий уровень развития скоростно-силовых способностей. У мальчиков 7 и 8 классов городской и сельской школы (группы Г-1, Г-5, Г-2, Г-6) развитие скоростно-силовых способностей соответствует среднему уровню подготовленности. У девочек ситуация совсем иная: в 7 и 8 классах городской школы уровень подготовленности средний, а у девочек сельской школы – низкий.

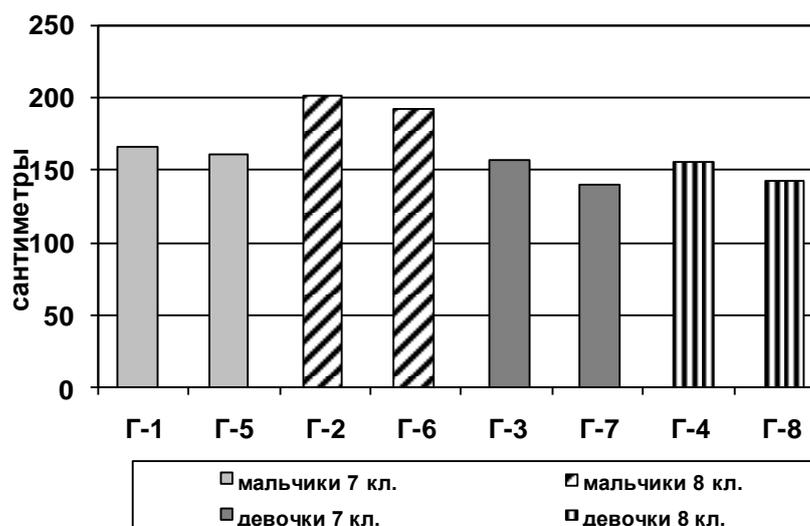


Рис. 4. Величина показателя «прыжки в длину с места» (сантиметры) у мальчиков и девочек 7–8 классов в городской и сельской школе

Величина показателя «наклон вперед» (НВ) характеризует уровень развития гибкости у детей из двух разных школ. У мальчиков 7 класса городской школы (Г-1) величина НВ составила $3,00 \pm 0,77$ см, а у их сверстников в сельской школе (Г-5) – $1,40 \pm 0,57$ см, что соответствует среднему и низкому уровню подготовленности. Разница показателей в группе Г-1 и Г-5 составила 73 % ($p \leq 0,01$) (рис. 5). У девочек 7 класса городской школы (Г-3) показатели составили $11,40 \pm 1,12$ см, что соответствует среднему уровню, а у девочек сельской школы (Г-7) показатель составил $4,00 \pm 0,49$ см, что является низким уровнем развития гибкости. Разница между группами Г-3 и Г-7 составила 99 % ($p \leq 0,01$) (рис. 5). Полученные результаты свидетельствуют о том, что у мальчиков и девочек городской школы гибкость развита на среднем уровне, а у их сверстников из сельской школы – на низком уровне.

У мальчиков 8-х классов городской школы (Г-2) показатель НВ составил $7,60 \pm 2,75$ см, в сельской школе (Г-6) – $7,40 \pm 1,15$ см. В обеих группах уровень подготовленности является средним (рис. 5). У девочек 8 класса городской школы (Г-4) показатель НВ составил $11,0 \pm 1,08$ см, в сельской школе (Г-8) – $9,60 \pm 0,87$ см – это средний уровень развития гибкости. Разница между группами Г-4 и Г-8 составила 14 % ($p \leq 0,05$) (рис. 5). Следовательно, практически у всех обследованных школьников (группы Г-1, Г-2, Г-6, Г-3, Г-4, Г-8) развитие гибкости соответствует среднему уровню подготовленности, кроме детей 7 класса сельской школы (Г-5 и Г-7), где уровень развития гибкости низкий.

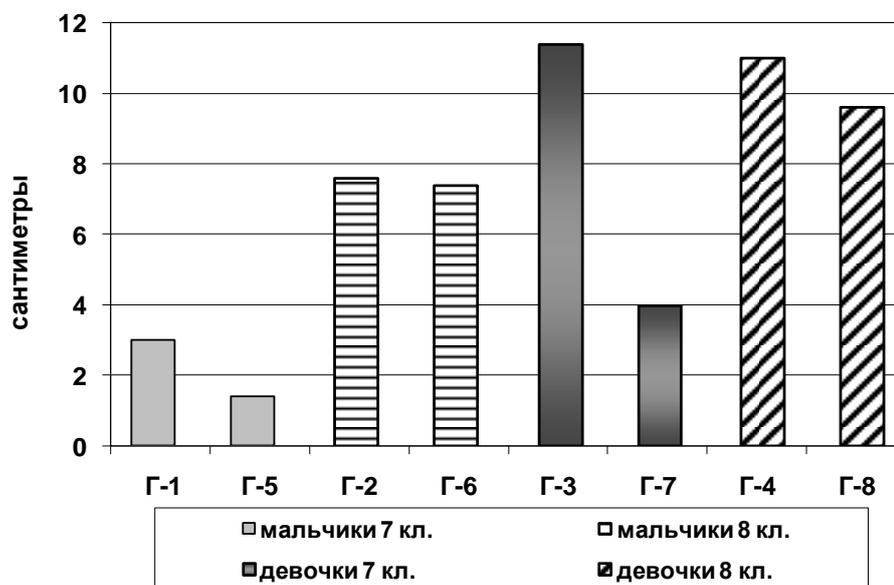


Рис. 5. Величина показателя «наклоны вперед» (сантиметры) у мальчиков и девочек 7–8 классов в городской и сельской школе

Уровень развития выносливости у детей среднего школьного возраста, обучающихся в городской и сельской школах, также несколько различен. Так, у мальчиков 7 класса городской школы (Г-1) показатель выносливости составил $1060,0 \pm 9,7$ м, что указывает на средний уровень подготовленности, а у их сверстников из сельской школы (Г-5) – $880,0 \pm 10,2$ м, что свидетельствует о низком уровне развития выносливости. Разница показателей в группе Г-1 и в группе Г-5 составила 19 % ($p \leq 0,05$) (рис. 6).

У девочек этого же возраста городской школы (Г-3) показатель составил $816,0 \pm 8,1$ м, что соответствует среднему уровню подготовленности, а у девочек сельской школы (Г-7) показатель составил $680,0 \pm 11,0$ м, что свидетельствует о низком уровне подготовленности (рис. 6). Разница между группами Г-3 и Г-7 составила 18 % ($p \leq 0,01$). Следовательно, у школьников 7-х классов городской школы – и мальчиков, и девочек – выносливость развита лучше и достигает среднего уровня подготовленности.

Величина показателя, характеризующего выносливость, у мальчиков 8 класса и городской (Г-2), и сельской (Г-6) школы была практически одинаковой и составила $1070,0 \pm 22,9$ м и $1060,0 \pm 17,0$ м соответственно, что свидетельствует о среднем уровне развития выносливости и подготовленности (рис. 6). У девочек городской (Г-4) и сельской (Г-8) школы исследуемый показатель также соответствовал среднему уровню подготовленности и составил $900,0 \pm 20,0$ м и $860,0 \pm 14,7$ м

соответственно. Практически у всех обследуемых (группы Г-1, Г-2, Г-6, Г-3, Г-4, Г-8) развитие выносливости достигло среднего уровня подготовленности, кроме 7 класса сельской школы (Г-5 и Г-7), где уровень выносливости низкий (рис. 6).

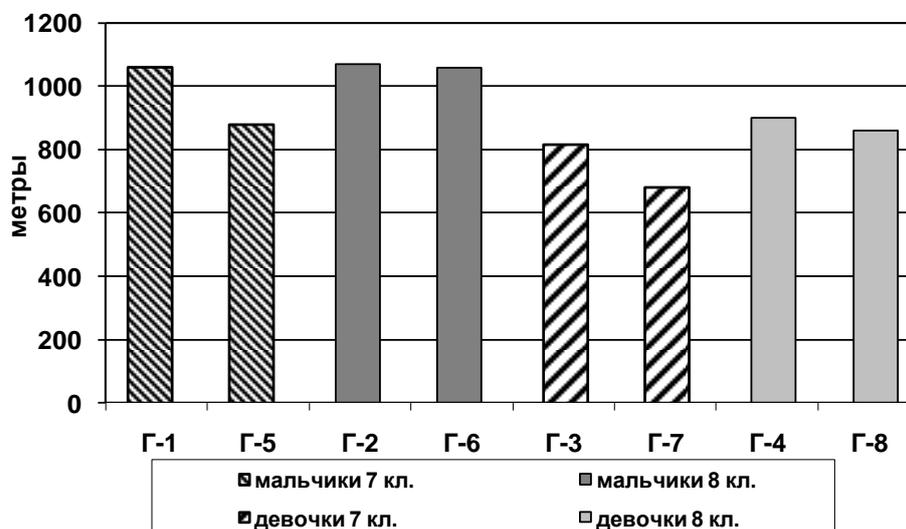


Рис. 6. Величина показателя «шестиминутный бег» (метры) у мальчиков и девочек 7–8 классов в городской и сельской школе

Таким образом, проведенные исследования показали, что у детей городской и сельской школы уровень физической подготовленности и развитие основных двигательных качеств находятся на разном уровне. Установлено, что у мальчиков городской школы как в 7, так и в 8 классе практически все показатели находятся на среднем и высоком уровне, за исключением показателя силы, который соответствует низкому уровню развития. У всех девочек городской школы уровень физической подготовленности еще лучше, т. к. все показатели находятся на высоком и среднем уровне. Для детей сельской школы ситуация иная: зафиксирован большой разброс в уровне развития отдельных двигательных качеств и более низкий общий уровень физической подготовленности. Однако отмечено существенное повышение уровня развития двигательных качеств и уровня физической подготовленности у мальчиков 8 класса по сравнению с 7 классом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что у детей, обучающихся в городской и сельской школе, уровень физической подготовленности и развитие основных двигательных качеств находятся на разном уровне.
2. У школьников городской школы, обучающихся в 7 и 8 классе, как мальчиков (группы Г-1, Г-2), так и девочек (группы Г-3, Г-4), уровень развития скоростных, координационных, скоростно-силовых способностей, гибкости и выносливости был существенно выше ($p \leq 0,05 - 0,01$), чем у их сверстников в сельской школе (группы Г-5, Г-6, Г-7, Г-8).
3. Уровень развития силовых способностей у большинства обследованных школьников находился на низком уровне (группы Г-1, Г-2, Г-5, Г-7, Г-8), и только у девочек 7 и 8 класса городской школы (группы Г-3, Г-4) и мальчиков 8 класса сельской школы (группа Г-6) он достиг среднего уровня.

Список литературы

1. Кузнецова З. И. Как вести контроль за двигательной подготовленностью школьников / З. И. Кузнецова // Физкультура в школе. – 2000. – № 1. – С. 15–17.
2. Кузнецова М. Н. Динамика физического развития и функциональной подготовленности детей дошкольного возраста / М. Н. Кузнецова, С. Д. Поляков, И. Т. Корнеева [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – М., 2010 – Т. 9, № 1. – С. 12–16.
3. Филин В. П. Основы юношеского спорта / В. П. Филин, П. А. Фомин. – М.: Физкультура и спорт, 1980. – 255 с.
4. Фомин Н. А. Физиологические основы двигательной активности / Н. А. Фомин, Ю. Н. Вавилов. – М.: Физкультура и спорт, 1991. – 224 с.
5. Бальсевич В. К. Здоровьеформирующая функция образования в Российской Федерации (материалы к разработке Национального проекта оздоровления подрастающего поколения России в период 2006–2026 гг.) / В. К. Бальсевич // Здоровье для всех – 2010. – № 5. – С. 45–50.
6. Бальсевич В. К. Физическая культура для всех и для каждого / В. К. Бальсевич. – М.: Физкультура и спорт, 1988. – 208 с.
7. Бедретдинов Ш. Х. Совершенствование физического состояния юношей учащихся 10 и 11 классов общеобразовательной школы: автореф. дис. ... канд. пед. наук: защищена 20.04.2006 / Ш. Х. Бедретдинов. – М.: Изд-во Российской эконом. акад. им. Г. В. Плеханова, 2006 – 24 с.
8. Изаак С. И. Мониторинг физического развития и физической подготовленности российских детей дошкольного возраста / С. И. Изаак, Т. В. Панасюк. // Педиатрия – 2005. – № 3. – С. 60–62.
9. О проведении всероссийских спортивных соревнований (игр) школьников [Электронный ресурс]: указ Президента РФ № 948 от 30 июля 2010 г. – Режим доступа: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/31523>.
10. Об общероссийской системе мониторинга состояния физического здоровья населения, физического развития детей, подростков и молодежи [Электронный ресурс]: пост. Правительства РФ от 29. 12. 2001 г. № 916. – Режим доступа: <http://base.garant.ru/12125274/>.

**THE LEVEL OF PHYSICAL PREPAREDNESS AND DEVELOPMENT OF
MOTOR SKILLS IN CHILDREN OF SECONDARY SCHOOL AGE IN URBAN
AND RURAL SCHOOL**

Grabovskaya E. Yu., Belogub N. V., Arkhangelskaya E. V.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: grabovskaya13@mail.ru*

The growth of the educational load, a significant decrease in the motor activity of children and adolescents in overtime, a decrease in the number of students attending additional sports activities, leads to a deterioration in physical condition and a decrease in physical fitness of modern schoolchildren compared to their peers 20–30 years ago. The physical training of the younger generation is now largely confined to school. For the majority of schoolchildren physical education lessons are not only the main, but often the only form of their physical education. Numerous researchers write that in modern school educational systems of physical training are improved, innovative technologies of training are introduced, the modern sports equipment is more various used, training of professional experts in this field is more qualified, but, nevertheless, physical training of graduates of high schools remains at the low level.

Currently, the study of this problem are engaged in many professionals trying to find new opportunities to improve the quality of physical fitness of students. Unfortunately, school practice shows that the level of physical fitness and the results of physical activity of schoolchildren studying in urban and rural schools are different. In this regard, there was a problem of practical study of the physical fitness of students of secondary school age enrolled in different schools – urban and rural.

85 children of secondary school age were examined: 45 children enrolled in the city school were engaged in additional sports, and 40 pupils enrolled in the rural school were not engaged in sports. The age of all surveyed students 12 to 14 years. The physical fitness level was assessed in groups of subjects. The main physical qualities of the organism were evaluated: strength, speed, flexibility, endurance, dexterity (coordination abilities). To assess the level of physical fitness of children of secondary school age, they chose "Presidential competitions", which include, in particular, sports all-round (tests). All schoolchildren were evaluated speed abilities, power abilities, agility (coordination abilities), speed-power abilities, flexibility and endurance.

Studies have shown that children of urban and rural schools have different levels of physical fitness and development of basic motor skills. It is established that in boys of city school both in 7, and in 8 class practically all indicators are on "average" and "high" level, except for the indicator of force which corresponds to "low" level of development. The level of physical fitness is even better for all girls in urban schools, as all indicators are "high" and "medium". For rural school children the situation is different-there is a greater variation in the level of development of certain motor qualities and a lower overall level of physical fitness. However, there was a significant increase in the level of development of motor skills and physical fitness level among boys 8th grade, compared to 7 class.

Keywords: physical fitness, motor skills, middle school age, urban school, rural school

References

1. Kuznetsova Z. I., How to control the motor readiness of students, *Physical education at school*, **1**, 15, (2000).
2. Kuznetsova M. N., Polyakov S. D., Korneeva I. T. [i dr.], Dynamics of physical development and functional readiness of preschool children, *Current Pediatrics*, **9**, **1**, 12 (2010).
3. Filin V. P., Fomin P. A., *Fundamentals of youth sports*, 255 p, (Moscow, 1980).
4. Fomin N. A., Vavilov Y. N., *Physiological basis of motor activity*, 224 p, (Moscow, 1991).
5. Balsevich V. K., Health-Forming function of education in the Russian Federation (materials to development of the National project of improvement of rising generation of Russia during 2006–2026), *Health for all*, **5**, 45 (2010).
6. Balsevich V. K., *Physical culture for all and for everyone*, 208 p, (Moscow, 1988).
7. Bedretdinov S. H., Improving the physical status of the young men students of the 10th and 11th grades of secondary schools: author. dis. ... candidate of pedagogics: protected 20.04.2006, 24 p. (Moscow, 2004).
8. Izaak S. I., Panasyuk T. V., Monitoring of physical development and physical preparedness of Russian preschool children, *Pediatric*, **3**, 60 (2005).
9. About carrying out the all-Russian sports competitions (games) of school students [Electronic resource]: the decree of the President of the Russian Federation No. 948 of July 30, 2010, Access Mode: URL: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/31523>.
10. About the all-Russian system of monitoring of a condition of physical health of the population, physical development of children, teenagers and youth [Electronic resource]: post. Of the RF government dated 29. 12. 2001, No. 916, Access Mode: URL: <http://base.garant.ru/12125274/>.

УДК 612.821, 159.91

ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЫШЦ КИСТИ И ПРЕДПЛЕЧЬЯ У СПОРТСМЕНОВ АЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА

Джелдубаева Э. Р., Туманянц К. Н., Чуян Е. Н.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: delviza@mail.ru*

С помощью электромиографического метода поверхностной интерференционной электромиографии был проанализирован характер состояния мышц предплечья и кисти на фоне электрической активности во время силовой тяги у спортсменов асинхронных видов спорта.

Ключевые слова: поверхностная интерференционная электромиография, максимальная амплитуда и частота турнов, мышцы предплечья и кисти, борцы, баскетболисты, тхэквондисты.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что функциональные возможности нервно-мышечной системы (НМС) спортсменов являются одним из важнейших факторов, влияющих на результат их спортивной деятельности. Разработка новых и совершенствование традиционных спортивных и оздоровительных технологий неразрывно связаны с уровнем знаний о структуре и физиологических процессах нервно-мышечного аппарата, а также о механизмах управления движениями различной координационной сложности. При этом, несмотря на большое количество научных публикаций [1–3], проблема оценки функциональных возможностей НМС в качестве составляющей функциональной системы движения спортсмена раскрыта недостаточно.

В настоящее время в спортивной физиологии для оценки состояния НМС используют такие методы, как динамометрия и электронейромиография [1, 2, 4, 5]. Однако такого подхода недостаточно для комплексной оценки функциональных возможностей данной системы. На наш взгляд, эти знания могут быть существенно углублены и расширены с помощью использования метода поверхностной интерференционной электромиограммы (ПЭМГ), основанной на регистрации и анализе электрической активности мышц в состоянии покоя и при выполнении произвольных двигательных действий [5]. Анализ современных данных [6, 7] позволил установить целесообразность использования ПЭМГ для оценки функциональных возможностей НМС спортсменов циклических и ациклических видов спорта.

В связи с вышеизложенным **целью** данного исследования явилось установление электромиографических показателей мышц кисти и предплечья, участвующих в сжатии кисти в кулак, у спортсменов ациклических видов спорта с помощью метода поверхностной интерференционной электромиограммы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» при кафедре физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (СП) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».

В исследованиях приняли участие 30 спортсменов, специализирующихся в баскетболе, борьбе и тхэквондо. Данные виды спортивной деятельности, согласно классификации по спортивной физиологии, относят к ациклическим видам спорта. Участники исследования имели спортивную квалификацию от I–III разряда до мастера спорта, возраст составил 18–25 лет. В качестве объекта исследований выбрана кисть руки человека.

Основным методом нашего исследования являлась поверхностная (ПЭМГ) интерференционная электромиография.

Отведение и регистрация биопотенциалов скелетных мышц осуществлялись по общепринятой методике [8] с помощью многофункционального компьютерного комплекс «Нейрон-Спектр-5/S» (Декларация о соответствии № РОСС RU. ИМ18. Д00816, от 27. 01. 2014 до 26. 01. 2024) с использованием программы «Нейро-МВП.NET» (версия 3) (ООО «Нейрософт», Россия, г. Иваново, 2015).

Для регистрации ПЭМГ использовали пробу «Интерференционная ЭМГ». Были определены следующие движения: расслабленная кисть (30 секунд), сжатие кисти в кулак (30 секунд), расслабление кисти (30 секунд). Основанием для их выбора послужило то, что они наилучшим образом соответствуют движениям при захвате предметов.

На основе результатов анализа анатомического строения руки человека [9] были отобраны четыре мышцы, формирующие в наибольшей степени выбранные базовые движения:

- поверхностный сгибатель пальцев (*musculus flexor digitorum superficialis*);
- разгибатель пальцев (*musculus extensor digitorum*);
- длинный разгибатель большого пальца (*musculus extensor pollicis longus*);
- короткий сгибатель большого пальца кисти (*musculus flexor pollicis brevis*).

Зарегистрированные электромиограммы подвергались традиционному анализу [8, 10]. При этом оценивали такие параметры ПЭМГ, как частота и максимальная амплитуда турнов («поворотов») [11]. Регистрация миограмм позволит провести тонкий анализ работы задействованных мышц и выявить оптимальное соотношение их напряжений [12].

Полученные данные подвергали статистической обработке. Проверку на нормальность распределения величин осуществляли с помощью коэффициента Колмогорова – Смирнова. Достоверность различий средних величин независимых

выборки оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Для статистического анализа результатов исследования использовали программу «Statistica 10,0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что при расслабленной кисти максимальная амплитуда сокращений ПЭМГ по исследуемым мышцам различалась у спортсменов разной профессиональной направленности. Так, максимальный показатель был зарегистрирован у тхэквондистов при отведении с *m.flexor pollicis brevis* (109,54±42,88 мкВ) (табл. 1, рис. 1) Достоверные отличия максимальной амплитуды ПЭМГ при расслабленной кисти отмечались и при отведении с *m.flexor pollicis longus* у спортсменов-борцов (60,15±33,14 мкВ). При этом данный показатель у баскетболистов и тхэквондистов был выше в среднем на 39,64 % (p<0,01) (рис. 1а).

Таблица 1.

Показатели интерференционной поверхностной электромиограммы исследуемых мышц у спортсменов ациклических видов

Исследуемые мышцы	Тест	Показатели	Группы спортсменов		
			Борьба (1)	Баскетбол (2)	Тэквондо(3)
<i>Flexor digitorum superficialis</i>	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	64,15±33,55	57,45±38,47	53,83±31,44
	Сжатие	Максимальная амплитуда, мкВ	1224,80±733,48	1098,35±525,73	897,43±381,41
		Средняя частота, 1/с	225,26±63,15	243,90±69,21	231,22±60,05
		Ампл./част., мкВ*С	1,28±0,30	1,35±0,56	1,23±0,44
	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	69,89±33,72	67,73±40,22	77,40±53,30
<i>Extensor digitorum</i>	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	31,80±24,18	36,13±30,96	34,58±25,72
	Сжатие	Максимальная амплитуда, мкВ	1512,57±1147,36 p _{1,2} <0,03 p _{1,3} <0,01	844,88±545,06 p _{1,2} <0,03	610,46±241,06 p _{1,3} <0,01
		Средняя частота, 1/с	207,51±83,15 p _{1,2} <0,03 p _{1,3} <0,03	168,57±54,27 p _{1,2} <0,03	153,17±50,52 p _{1,3} <0,03
		Ампл./част., мкВ*С	6,01±8,53	1,86±1,07	1,60±0,73

Продолжение таблицы 1

	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	30,08±20,13	28,19±18,55	37,23±23,76
<i>Flexor pollicis longus</i>	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	60,15±33,14 p _{1,2} <0,05 p _{1,3} <0,03	100,04±51,27 p _{1,2} <0,05	99,28±44,43 p _{1,3} <0,03
	Сжатие	Максимальная амплитуда, мкВ	1019,44±743,53	772,50±246,69 p _{2,3} <0,01	625,82±239,24 p _{2,3} <0,01
		Средняя частота, 1/с	200,21±91,50	213,51±35,33 p _{2,3} <0,05	196,24±65,22 p _{2,3} <0,05
		Ампл./част., мкВ*С	2,62±2,38	1,08±0,22	1,22±0,49
	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	66,97±28,25	80,83±33,12	105,29±46,76
<i>Flexor pollicis brevis</i>	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	77,11±45,59	92,54±52,54	109,54±42,88
	Сжатие	Максимальная амплитуда, мкВ	1929,13±1020,62 p _{1,3} <0,01	2228,54±1108,08 p _{2,3} <0,01	1784,43±885,54 p _{1,3} <0,01 p _{2,3} <0,01
		Средняя частота, 1/с	287,61±74,55	282,02±43,20	266,17±51,64
		Ампл./част., мкВ*С	1,31±0,35	1,41±0,40	1,44±0,58
	Расслаблена кисть	Максимальная амплитуда, мкВ	70,13±42,26 p _{1,3} <0,01	77,98±38,62	95,61±43,79 p _{1,3} <0,01

Примечание: p_{1,2,3} – достоверность полученных результатов по критерию Манна – Уитни

При сжатии кисти в кулак изменения максимальной амплитуды турнов ПЭМГ с *m. extensor digitorum* и *m. flexor pollicis brevis* показало, что максимальное значение его отмечается у борцов (1512,57±1147,36 мкВ и 1019,44±743,53 мкВ), минимальное – у тхэквондистов (610,46±241,06 мкВ и 625,82±239,24 мкВ), что меньше на 59,64 % (p<0.01) и 38,61 (p<0.01) соответственно. При регистрации ПЭМГ с *m. flexor pollicis brevis* максимальный данный показатель отмечался у баскетболистов.

При расслаблении после сжатия кисти достоверные отличия в максимальной амплитуде турнов были зарегистрированы между борцами и тхэквондистами при отведениях с *m. flexor pollicis brevis* и *m. flexor pollicis longus*. При этом данные показания у спортсменов-тхэквондистов были в среднем на 32,04 % (p<0.01) выше, чем таковые у борцов (рис. 1в).

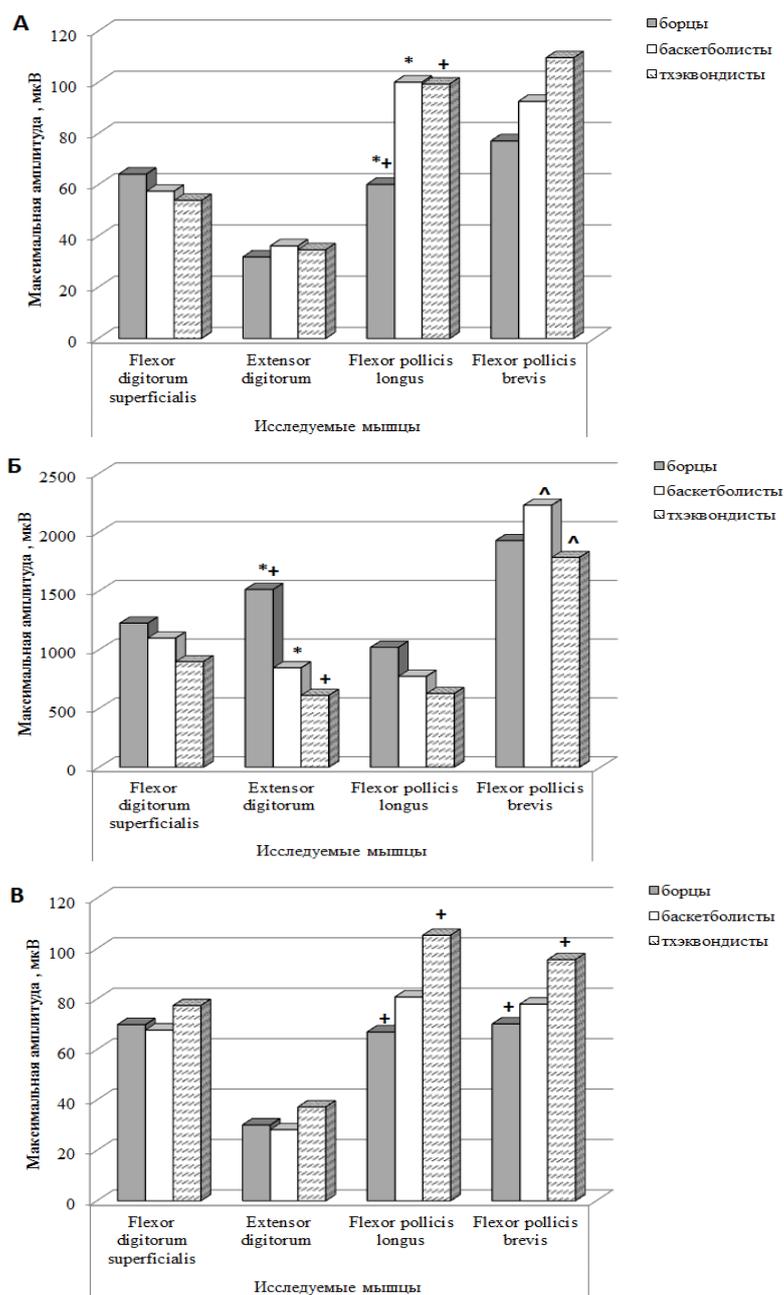


Рис. 1. Изменение показателя максимальной амплитуды мышечных турнов исследуемых мышц при расслабленной кисти (А), сжатой кисти в кулак (Б), расслабленной после сжатия кисти (В) у спортсменов ациклических видов спорта
 Примечание: * – достоверность полученных результатов между группами борцов и баскетболистов по критерию Манна – Уитни; + – между группами борцов и тхэквондистов; ^ – между группами баскетболистов и тхэквондистов.

При анализе изменения частоты турнов ПЭМГ при сжатии кисти в кулак у спортсменов разных направлений выявил достоверные отличия этого показателя при регистрации с *m. extensor digitorum* и *m. flexor pollicis longus* (рис. 2). Так, при отведении с *m. extensor digitorum* отличия отмечались между показателями у борцов и баскетболистов (был выше на 18,77 %; $p < 0,03$) и борцов и тхэквондистов (на 26,19 %; $p < 0,03$); при отведении с *m. flexor pollicis longus* – между баскетболистами и тхэквондистами (выше на 8,09 %; $p < 0,05$).

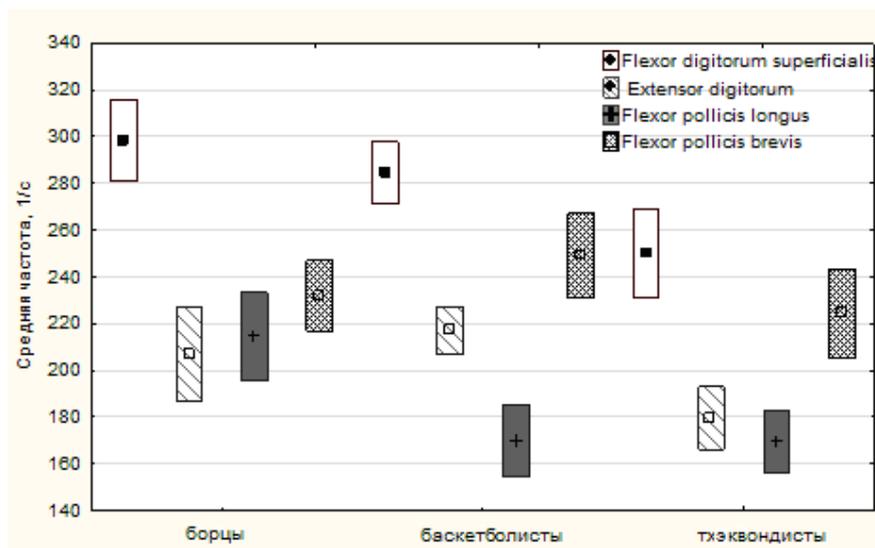


Рис. 2. Изменение показателя средней частоты (1/с) турнов участников исследования мышц при сжатой кисти в кулак у спортсменов ациклических видов спорта (точка – среднее арифметическое, прямоугольник – стандартная ошибка)

Турно-амплитудный анализ зарегистрированных ЭМГ выявил, что при выполнении сжатия кисти у спортсменов разных направлений электромиографический рисунок имеет специфические особенности (рис. 3). Своеобразие рисунка ЭМГ проявляется в различных величинах амплитуды и количестве турнов, а также в порядке активации исследуемых мышц при выполнении сжатия кисти. Это позволяет выявить «ненужное» напряжение мышц, которое сам спортсмен может не осознавать.

Таким образом, с помощью электромиографического метода был проанализирован характер состояния мышц предплечья и кисти, участвующих в сжатии кисти в кулак, на фоне электрической активности во время максимальной силовой тяги у спортсменов асинхронных видов спорта.

Известно, что амплитуда и частота ЭМГ, которые нарастают градуально, определяются количеством возбужденных двигательных единиц, а также степенью синхронизации их возбуждения. Это связано с тем, что сначала активируются двигательные единицы, обладающие большей возбудимостью, а затем другие [13].

Механизмы данных феноменологий мышечных сокращений определяются увеличением частоты нервных импульсов, поступающих в скелетные мышцы от мотонейронов спинного мозга, вовлечением в работу большого числа двигательных единиц, синхронизацией их активности, приводящих к повышению силы сокращения мышцы [14–16].

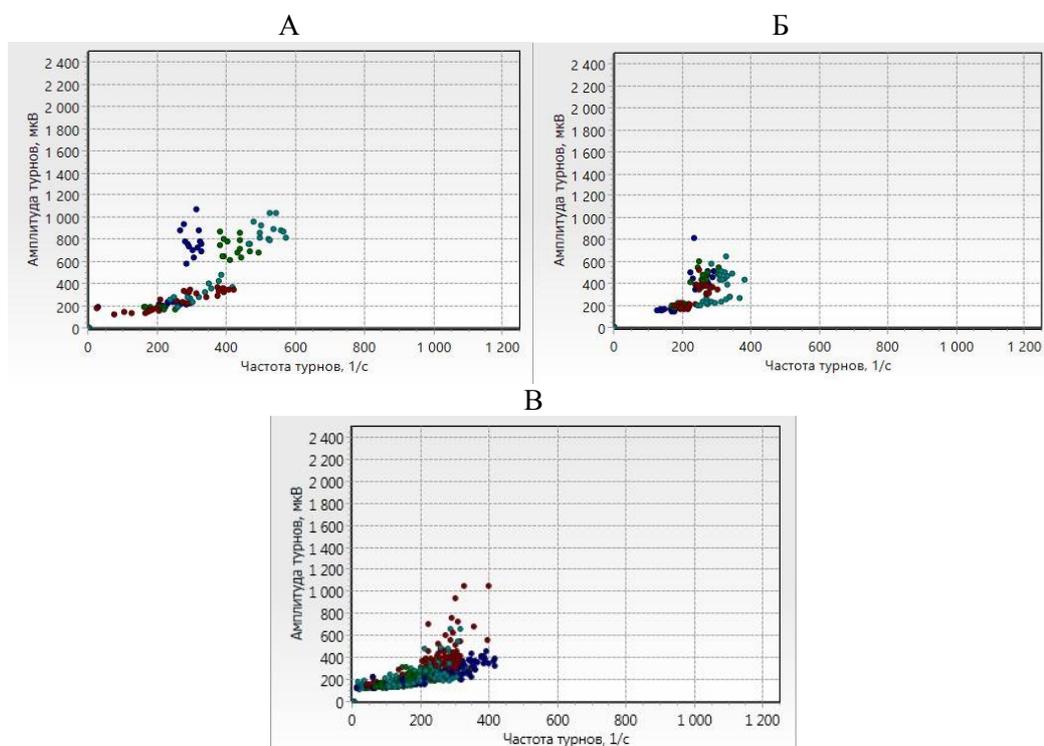


Рис. 3. Показания турно-амплитудного анализа поверхностной интерференционной электромиограммы мышц кисти и предплечья, участвующих в сжатии в кулак, у борцов (А), баскетболистов (Б) и тхэквондистов (В)

Наши данные и исследования других авторов [17–19] показали наличие различных электромиографичних порогов у спортсменов различных направлений. Появление данных изменений у спортсменов авторы объясняют возможностью включения в работу различных типов мышечных волокон (переходных и гликолитических) в ответ на повышение интенсивности нагрузки до определенного уровня. Также показано, что рекрутирование новых двигательных единиц (особенно быстро сокращающихся: II-я и II-б типов) обусловлено механизмами развития утомления локального и общего генезиса. Таким образом, выявленные результаты в данной работе могут быть основой для разработки методики оценки резервных возможностей различных по типу мышечных волокон с использованием ПЭМГ.

Результаты исследований CJ De Luca [17] и S. Green [20] свидетельствуют о том, что с увеличением числа активированных высокоскоростных II-я и II-б типа (гликолитических) мышечных волокон стремительнее растет амплитуда ЭМГ. Это обуславливается увеличением вклада анаэробного энергообеспечения. То есть значительный прирост амплитуды ПЭМГ различных мышц кисти и предплечья, участвующих в сжатии кисти, обусловлен способностью НМС к включению большого количества быстросокращающихся мышечных волокон, а также синхронизации действия двигательных единиц и высокими резервными возможностями высокоскоростных мышечных волокон [21].

Результаты электромиографических исследований мышц могут быть использованы при выборе средств и методов физической реабилитации, направленных на оптимизированные координационные взаимоотношения в межмышечных связях при выполнении специальной силовой тренировки у спортсменов разных направлений подготовки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При выполнении сжатия кисти у спортсменов разных направлений электромиографический рисунок имеет специфические особенности. Своеобразие рисунка ЭМГ проявляется в различных величинах амплитуды и количестве турнов, а также в порядке активации исследуемых мышц при выполнении сжатия кисти.
2. Высокие показания максимальной амплитуды мышечных колебаний при расслабленной кисти регистрируются у тхэквондистов при отведении с *m. flexor pollicis brevis* и у борцов – с *m. flexor pollicis longus*. При сжатии кисти в кулак более высокие изменения максимальной амплитуды турнов с *m. extensor digitorum* и *m. flexor pollicis brevis* отмечаются у борцов, более низкие – у тхэквондистов. Максимальный данный показатель при отведении с *m. flexor pollicis brevis* зарегистрирован у баскетболистов. При расслаблении после сжатия кисти достоверные отличия в максимальной амплитуде турнов зарегистрированы между борцами и тхэквондистами при отведении с *m. flexor pollicis brevis* и *m. flexor pollicis longus*.
3. Достоверные изменения частоты турнов ПЭМГ отмечаются при отведении с *m. extensor digitorum* (между показателями у борцов и баскетболистов, а также борцов и тхэквондистов); при отведении с *m. flexor pollicis longus* (между баскетболистами и тхэквондистами).

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках инициативной части государственного задания № 6.5452.2017/8.9 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Временная организация физиологических систем человека и животных: феноменология и механизмы генерации и регуляции микро- и мезоритмов».

Работа выполнена на оборудовании КП ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика».

Список литературы

1. Городничев Р. М. Спортивная электронейромиография / Р. М. Городничев. – Великие Луки: ВЛГИФК, 2005. – 230 с.
2. Капилевич Л. В. Физиологические методы контроля в спорте / Л. В. Капилевич, К. В. Давлетьярова, Е. В. Кошельская, Ю. П. Бредихина, В. И. Андреев. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2009. – 172 с.
3. Machado F. A. Effect of stage duration on maximal heart rate and post-exercise blood lactate concentration during incremental treadmill tests / F. A. Machado, A. C. Kravchychyn, C. S. Peserico, D. F. da Silva, P. V. Mezzaroba // J. Sci. Med. Sport. – 2013. – V.16, №3. – P. 276–280.
4. Hug F. Occurrence of electromyographic and ventilatory thresholds in professional road cyclists / F. Hug, D. Laplaud, B. Savin, L. Grelot // Eur. J. Appl. Physiol. – 2003. – V. 90. – P. 643–646.
5. Команцев В. Н. Методические основы клинической электронейромиографии / В. Н. Команцев. – Руководство для врачей. – СПб.: 2006. – 362 с.
6. Maestu J. Electromyographic and neuromuscular fatigue thresholds as concepts of fatigue / J. Maestu, A. Chiccella, P. Purge, S. Ruosi // Journal of Strength and Conditioning research. – 2006. – V. 20, № 4. – P. 824–28.
7. Складанівська І. В. Оцінка аеробних можливостей м'язів із використанням методу поверхневої електроміографії / І. В. Складанівська // Актуальні проблеми фізичної культури та спорту. – 2014. – № 32 (4). – С. 42–45.
8. Николаев С. Г. Практикум по клинической электромиографии. Практическое руководство / С. Г. Николаев // Иван. гос. мед. академия. – Изд. 2-е., доп. – Иваново, 2003. – 264 с.
9. Колесников Л. Л. Анатомия человека. Атлас в 3-х томах. Том 1. Остеология, артросиндесмология, миология / Колесников Л. Л. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 480 с.
10. Еськов В. М. Субъективная и объективная оценка степени напряжения мышц / В. М. Еськов, Ю. П. Зинченко, В. В. Еськов, Д. Ю. Филатова // Вестник московского университета. Серия 14. Психология. – 2016. – № 2. – С. 19–35.
11. Лапшин В. П. К вопросу анализа интерференционной (суммарной) электромиограммы (ЭМГ) / В. П. Лапшин, С. Г. Николаев, С. В. Гусев, Г. А. Панченко // Материалы II международной конференции «Радиоэлектроника в медицинской диагностике». Москва, сент. 1997. – М., 1997. – С. 107–109.
12. Иванова М. П. Корковые механизмы произвольных движений человека / М. П. Иванова. – М.: Наука, 1991. – 193 с.
13. Александров Ю. И. Основы психофизиологии / Ю. И. Александров. – М.: ИНФРА, 1998. – 432 с.
14. Аганянц Е. К. Очерки по физиологии спорта / Аганянц Е. К., Бердичевская Е. М., Трембач А. Б. – Краснодар: Экоинвест, 2001. – 204 с.
15. Trembach A. B. Characteristics of the electromyogramme of the biceps muscle of arm of weight-lifters at various graduated weight bearing / A. B. Trembach // Theory and practice of physical culture. – 2000. – No. 1. – P. 20–22.
16. Deschamps Th. Reciprocal iming precision and central adaptations as a function of mechanical constraints / Th. Deschamps, A. Murian, F. Hug // Journal of Electromyography and Kinesiology. – 2011. – No. 21. – P. 968–97.
17. Lucia A. Analysis of the aerobic-anaerobic transition in elite cyclists during incremental exercise with the use of electromyography / A. Lucia, A. Sonchez, A. Carvajal, J. Chicharro // Br J Sports Med. – 1999. – No. 33 – P. 178–185.
18. Effect of stage duration on maximal heart rate and post-exercise blood lactate concentration during incremental treadmill tests / F. A. Machado, A. C. Kravchychyn, C. S. Peserico, D. F. da Silva, P. V. Mezzaroba // J Sci Med Sport. – 2013. – V. 16(3). – P. 276–280.
19. Maestu J. Electromyographic and neuromuscular fatigue thresholds as concepts of fatigue / J. Maestu, A. Chiccella, P. Purge, S. Ruosi // Journal of Strength and Conditioning research. – 2006. – V. 20(4). – P. 824–828.
20. Green S. Measurement of anaerobic capacities in humans. Definitions, limitations and unsolved problems / S. Green, B. Dawson // Sports Med. – 1993. – V. 5, Is. 15. – P. 312.

21. Zuniga J. M. Electromyographic and gas exchange fatigue thresholds during incremental treadmill running / J. M. Zuniga, M. P. Bubak, B. E. Fisher, D. E. Neighbors // Journal of Athletic Medicine. – 2013. – V. 1, Is. 2. – P. 99–109.

PECULIARITIES OF ELECTROMIOGRAPHIC INDICATORS IN ATHLETES OF ACYCLIC SPORTS

Dzheldubaeva E. R., Tumanyants K. N., Chuyan E. N.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation
E-mail: delviza@mail.ru*

With the help of the electromyographic method of surface interference electromyography, the character of the state of the muscles of the forearm and the hand was analyzed against the background of electrical activity during the traction of athletes of asynchronous sports. The following movements were defined: relaxed brush (30 seconds), compression of the hand into a fist (30 seconds), relaxation of the brush (30 seconds). The reason for their choice was that they are best suited to the movements that capture objects.

It is shown that when performing brush compression in athletes of different directions, the electromyographic pattern has specific features. The peculiarity of the EMG pattern is manifested in different amplitude values and the number of thorns, and also in the order of activation of the muscles under investigation when brush compression is performed. This allows you to identify the "unnecessary" muscle tension, which the athlete himself may not realize.

The results of the study showed that high readings of the maximum amplitude of muscle oscillations with a relaxed hand are recorded in taekwondoers when being led away from m.flexor pollicis brevis and in wrestlers with m.flexor pollicis longus. When the brush is compressed into a fist, higher changes in the maximum amplitude of the turn with m. extensor digitorum and m.flexor pollicis brevis are noted in wrestlers, lower ones are for taekwondo players. The maximum given figure at an abduction with m.flexor pollicis brevis is registered at basketball players. When relaxing after brush compression, significant differences in the maximum amplitude of the thorns are recorded between wrestlers and taekwondists in leads with m.flexor pollicis brevis and m.flexor pollicis longus. A significant change in the frequency of the TEMG tours is observed with the departure from m. extensor digitorum (between the indicators of wrestlers and basketball players, as well as wrestlers and taekwondo players); at the lead with m.flexor pollicis longus (between basketball players and taekwondo players).

Thus, the results of electromyographic studies of muscles can be used to select the means and methods of physical rehabilitation aimed at optimized coordination relationships in intermuscular connections when performing special strength training for athletes of different training areas.

Keywords: surface interference electromyography, maximum amplitude and frequency of thorns, forearm and hand muscles, wrestlers, basketball players, taekwondo players.

References

1. Gorodnichev R. M. *Sportivnaya elektroneymyografiya*, 230 p. (are Great Luke: VLGIFK, 2005).
2. Kapilevich L. V., Davlet'yarova T. V., Koshel'skaya E. V., Bredikhina Yu. P., Andreev V. I. *Fiziologicheskie control methods in sport*, 172 p. (is Tomsk: Izd-vo of the Tomsk polytechnic university, 2009).
3. Machado F. A., Kravchychyn A. C., Peserico C. S., da Silva D. F., Mezzaroba P. V. Effect of stage duration on maximal heart rate and post-exercise blood lactate concentration during incremental treadmill tests, *J. Sci. Med. Sport*, **16**, 3 (2013).
4. Hug F., Laplaud D., Savin B., Grelot L. Occurrence of electromyographic and ventilatory thresholds in professional road cyclists, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **90**, 643 (2003).
5. Komancev V. N. *Metodicheskie bases of clinical elektroneymyografii*, 362 p. (it is Guidance for doctors. SPb., 2006).
6. Maestu J., Chiccella A., Purge P., Ruosi S. Electromyographic and neuromuscular fatigue thresholds as concepts of fatigue, *Journal of Strength and Conditioning research*, **20**, 4 (2006).
7. Skladanivska I. V. Ocinka aerobic possibilities of muscles with the use of method of superficial electromyography, *Issues of the day of physical culture and sport*, **32**, 4 (2014).
8. Nikolaev S. G. *Praktikum on a clinical electro-myography* – Nikolaev S. G. is Practical guidance, 264 p. (Ivan. gos. honey. academy Edition 2th., dop. Ivanovo, 2003).
9. Kolesnikov L. L. *Anatomiya man*. An atlas is in 3th volumes, 480 p. (Tom 1. Osteology, artrosindesmologiya, miologiya. are GEOTAR-medias, 2017).
10. Es'kov V. M., Zinchenko Yu. P., Es'kov V. V., Filatova D. Yu. Sub'ektivnaya and objective estimation of degree of tension of muscles, *Announcer of the Moscow university. Series 14. Psychology*, **2**, 19 (2016).
11. Lapshin V. P., Nick S. G., Gusev S. V., Panchenko G. A. To the question of analysis of interference (total) electromyogram (EMG), *Materials of the II International conference «Radio electronics in medical diagnostics» Moscow, sent. 1997. - Sb. dokl.*, 107. (M., 1997).
12. Ivanova M. P. *Korkovye mechanisms of autokinesias of man*, 193 p. (M.: «Science», 1991).
13. Aleksandrov Yu. I. *Osnovy to psikhofiziologii*, 432 p. (M.: INFRA is Mcode, 1998).
14. Aganyanc E. K., Berdichevskay A. E., Trembach A. B., Ocherki on physiology of sport, *Aganyanc e.k.,: Ekoinvest*, 204 p. (Krasnodar 2001).
15. Trembach A. B. Characteristics of the electromyogramme of the biceps muscle of arm of weight-lifters at various graduated weight bearing, *Theory and practice of physical culture*, **1**, 20 (2000).
16. Deschamps Th., Murian A., Hug F. Reciprocal iming precision and central adaptations as a function of mechanical constraints, *Journal of Electromyography and Kinesiology*, **21**, 968 (2011).
17. Lucia A., Sonchez A., Carvajal A., Chicharro J. Analysis of the aerobic-anaerobic transition in elite cyclists during incremental exercise with the use of electromyography, *Br J Sports Med.*, **33**, 178 (1999).
18. Machado F. A., Kravchychyn A. C., Peserico C. S., Da Silva D. F., Mezzaroba P. V. Effect of stage duration on maximal heart rate and post-exercise blood lactate concentration during incremental treadmill tests, *J Sci Med Sport.*, **16**, 3 (2013).
19. Maestu J., Chiccella A., Purge P., Ruosi S. Electromyographic and neuromuscular fatigue thresholds as concepts of fatigue, *Journal of Strength and Conditioning research*, **20**, 4 (2006).
20. Green S., Dawson B. Measurement of anaerobic capacities in humans. Definitions, limitations and unsolved problems, *Sports Med.*, **5**, 15 (1993).
21. Zuniga J. M., Bubak M. P., Fisher B. E., Neighbors D. E. Electromyographic and gas exchange fatigue thresholds during incremental treadmill running, *Journal of Athletic Medicine*, **1** (2013).

УДК 663.1

**ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ТОРФОВ НА РОСТОВЫЕ
ПАРАМЕТРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ РОДА
RHODOCOCCLUS В ПРИСУТСТВИИ ГЕКСАДЕКАНА**

Дмитриева Е. Д., Леонтьева М. М., Каримова В. Т.

*Тульский государственный университет, Тула, Россия
E-mail: dmitrieva_ed@rambler.ru*

Спектрофотометрическим и гравиметрическим методами выявлен стимулирующий эффект, проявляемый гуминовыми веществами торфов различного генезиса при концентрации 50 мг/л на рост и размножение микроорганизмов нефтедеструкторов *Rhodococcus erythropolis* S67 и *Rhodococcus erythropolis* X5. Максимальные параметры роста – удельная скорость роста, время удвоения биомассы – наблюдались у микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* S67 в присутствии гуминовых веществ тростникового торфа. Гуминовые вещества, находящиеся в растворе, снижают стрессовые условия для микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* S67 и *Rhodococcus erythropolis* X5, что способствует более быстрой биодegradации ими субстрата – гексадекана, а также росту и размножению бактерий за счет увеличения растворимости органического субстрата и созданию на клеточной поверхности монослойного экрана, представляющего собой сетчатый фильтр из молекул гуминовых веществ.

Ключевые слова: скелетная мышца, катехоламины, адреналин, формотерол, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Нефть и продукты ее переработки принадлежат к наиболее распространенному классу загрязняющих веществ почвенных и водных сред. По степени вредного влияния на экосистемы нефтепродукты занимают второе место после радиоактивного загрязнения [1]. При этом существующие методы ликвидации последствий загрязнения нефтью и нефтепродуктами, включающие применение комплекса механических, физико-химических и биологических способов очистки, не всегда отвечают требованиям экологической безопасности из-за угрозы вторичного загрязнения [2].

Ежегодно в Тульской области используется от 200 до 300 млн м³ воды. Из этих вод в поверхностные водоемы за исследованный период было выброшено от 199 до 166 млн м³ воды. Данный показатель суммируется из объемов сброшенных нормативно-чистых, нормативно-очищенных и загрязненных сточных вод. Из них больший объем составляют загрязненные сточные воды.

В связи с этим весьма важным представляется поиск экологически безопасных методов ликвидации последствий нефтяного загрязнения, основанных на стимулировании и воспроизведении природных процессов самоочищения. К таким процессам относятся: связывание растворенных нефтяных углеводородов с природным органическим веществом в нетоксичные аддукты, естественное

диспергирование пленок нефти под воздействием органоминеральных ультрадисперсных частиц, сорбция и деградация разливов нефти в почвенном слое. При этом ведущим фактором, определяющим эффективность указанных процессов, являются гуминовые вещества [2].

Гуминовые вещества (ГВ) являются необходимым звеном в эволюции биосферы, важнейшим фактором устойчивости жизненных процессов [3, 4]. Функции, выполняемые гуминовыми веществами, – аккумулятивная, транспортная, регуляторная, протекторная и физиологическая [5].

В данной публикации будет рассматриваться физиологическая функция гуминовых веществ торфов, т. е. способность гуминовых веществ вызывать определенные реакции при их взаимодействии с живыми организмами [4]. Взаимодействуя с живыми организмами, ГВ в малых количествах влияют на рост, подавляя или стимулируя его. Они способны защищать живые клетки от токсического воздействия природных и антропогенных соединений. ГВ могут служить источником питания для микроорганизмов и трансформироваться естественными микробными сообществами [3]. Гуминовые вещества способны связывать различные классы экотоксикантов, образуя соединения с различными классами органических и неорганических веществ. Тем самым они являются своеобразными посредниками, смягчающими действие токсинов на живые организмы [6].

Цель исследования – установить влияние гуминовых веществ торфов различного генезиса на параметры роста микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* S67 и *Rhodococcus erythropolis* X5, способных к биodeградации легкой фракции нефти – гексадекана, для дальнейшей разработки химико-биологического сорбента на основе гуминовых веществ торфов и микроорганизмов нефтедеструкторов рода *Rhodococcus*, способного эффективно утилизировать нефтяные загрязнения в водных и почвенных средах.

Задачи работы:

- Определить количественные параметры роста микроорганизмов рода *Rhodococcus* в присутствии гуминовых веществ торфов, используя в качестве тест-функции выход биомассы клеток;
- Определить количественные параметры роста микроорганизмов рода *Rhodococcus* в присутствии гуминовых веществ торфов совместно с гексадеканом как представителем легкой фракции нефти.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись гуминовые вещества торфов различного генезиса Тульской области: тростникового низинного (ТНТ), черноольхового низинного (ЧНТ), сфагнового верхового (СВТ) и сфагнового переходного (СПТ) [7], выделенные традиционным методом водно-щелочной экстракции [8, 9].

Штаммы бактерий *Rhodococcus erythropolis* S67, *Rhodococcus erythropolis* X5 получены из лаборатории плазмид Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г. К. Скрыбина РАН (г. Пущино). Бактерии входят в состав биопрепарата «МикроБак», который используют для биоремедиации нефтезагрязненных территорий [10].

Рабочие растворы гуминовых веществ готовили следующим образом: к точным навескам препаратов ГВ добавляли 0,1 М NaOH и оставляли до полного растворения на 24 ч. Для достижения нейтрального значения pH растворов по каплям добавляли 0,05 М HNO₃ или 0,05 М NaOH, pH контролировали с помощью pH-метра Анион 4154. Фоновым электролитом служил 0,1М NaNO₃.

Микроорганизмы культивировали в жидкой минеральной среде Эванса [11] и полноценной среде Лурия – Бертани [1, 18].

Бактерии культивировали в пробирках или колбах Эрленмейера с 5 или 200 мл жидкой среды Эванса соответственно, 2 % n-гексадекана и гуминовыми веществами в концентрации 50 мг/л. Колбы инокулировали клеточной суспензией с посевной дозой 10⁵–10⁶ КОЕ/мл. Микроорганизмы культивировали в орбитальной качалке Excella E25 при 180 об/мин в течение 1–6 суток в зависимости от цели эксперимента [12, 13, 17].

Тест-функцией служил выход сырой биомассы, полученный после осаждения культуры центрифугированием в течение 7 минут при 10 тыс. оборотов при комнатной температуре. Образовавшийся осадок после центрифугирования физиологическим раствором по 1,5 мл вносили в пробирки типа Eppendorf. Осаждали клетки центрифугированием в течение 6 минут при 8 тыс. оборотов на центрифуге Centrifuge 5417R при комнатной температуре. Пробирки с клетками взвешивали на электронных весах с точностью до 4-ого знака после запятой [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние гуминовых веществ, оказываемое на живые организмы, определяется содержанием ГВ в растворе, а концентрация гуминовых веществ, при которой достигается максимальный биологический эффект, зависит как от свойств самих ГВ, так и от особенностей выбранного тест-объекта [15].

Обобщая ранее полученные результаты спектрофотометрического метода по изучению влияния ГВ на рост микроорганизмов нефтедеструкторов *Rh. erythropolis S67* и *Rh. erythropolis X5* [18], можно констатировать, что ГВ торфов Тульской области при концентрации 50 мг/л оказывают стимулирующее действие на рост микроорганизмов рода *Rhodococcus*. Данную концентрацию использовали в дальнейших экспериментах для оценки биологической активности ГВ торфов, где тест-откликом служили выход биомассы клеток и кривые роста микроорганизмов.

Выход биомассы микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *X5* относительно контроля, культивируемых на бедной минеральной среде Эванса с добавлением ГВ в качестве единственного источника углерода и энергии, при культивировании в течение 3 суток представлен на рис. 1.

Максимальный стимулирующий эффект на рост микроорганизмов оказывают ГВ (СВТ): биомасса *Rh. erythropolis X5* увеличилась в 5 раз по сравнению с контролем. На рост *Rh. erythropolis S67* наилучшим образом влияют ГВ (ТНТ): прирост биомассы в 4 раза больше относительно контроля. Таким образом, можно утверждать, что ГВ не оказывают ингибирующего действия на рост микроорганизмов, а, напротив, в концентрации 50 мг/л проявляют стимулирующий эффект на микроорганизмы рода *Rhodococcus*, способные использовать гуминовые вещества в качестве источника углерода и энергии. Однако следует заметить, что

ГВ, выделенные из разных торфов, по-разному влияют на рост микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *X5*, что связано как с различиями в физиологии микроорганизмов [11, 25], так и с особенностями молекулярно массового состава ГВ [15]. Очевидно, ГВ, содержащие фракции с меньшей молекулярной массой, которыми и являются ГВ (ТНТ) [19], имеют повышенное стимулирующее действие из-за возможности проникновения внутрь клетки через клеточную мембрану низкомолекулярных фракций. Модель проникновения низкомолекулярных фракций гуминовых веществ через клеточные стенки микроорганизмов построена в программе Tinkercad (рис. 2).

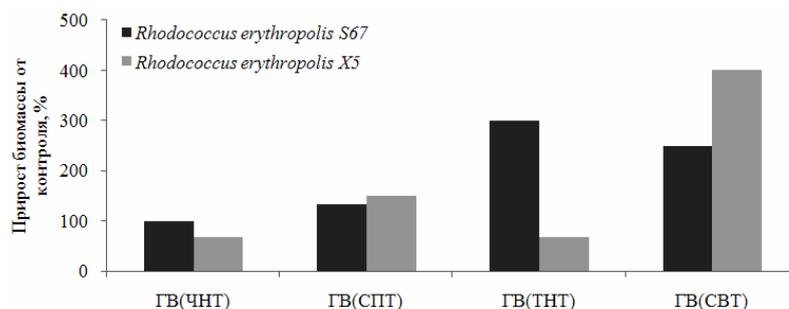


Рис.1. Прирост биомассы микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis S67* и *X5* в присутствии ГВ

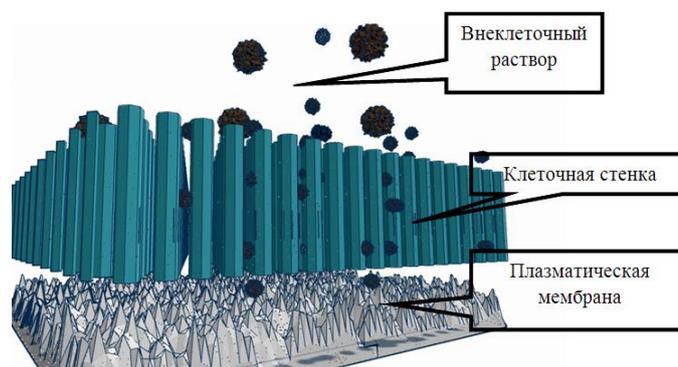


Рис. 2. Модель проникновения низкомолекулярных фракций гуминовых веществ через клеточные стенки микроорганизмов

Для наиболее полного представления влияния ГВ на рост штамма микроорганизмов *Rhodococcus* были получены кривые роста микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *X5* в среде Эванса в присутствии ГВ 50 мг/л (рис. 3)

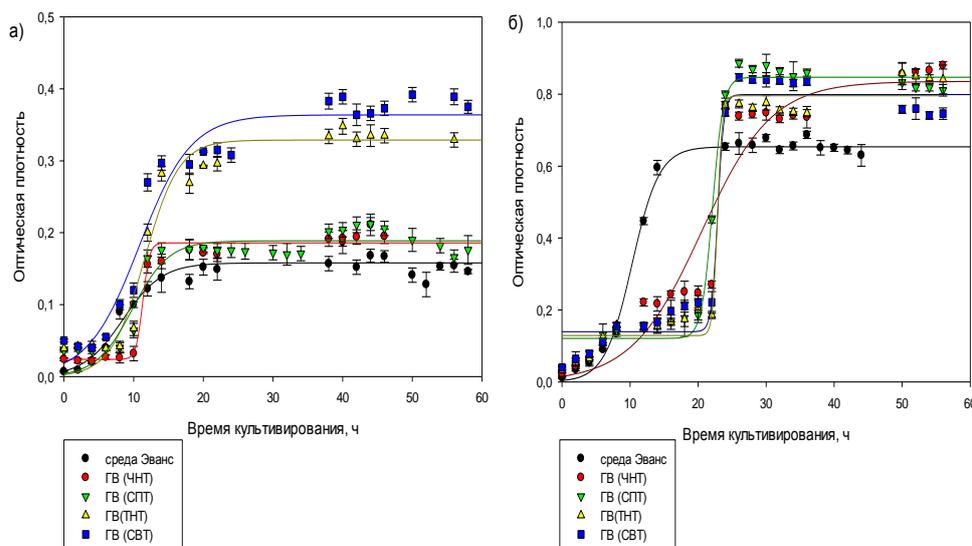


Рис. 3. Кривые роста микроорганизмов-нефтедеструкторов в присутствии гуминовых веществ: а) *Rh. erythropolis* S67, б) *Rh. erythropolis* X5

Анализ кривых роста (рис. 3а) показал: присутствие ГВ в растворе влияет на продолжительность логарифмической фазы роста микроорганизмов *Rh. erythropolis* S67. Гуминовые вещества (СВТ) увеличивают длительность фазы логарифмического роста в 2 раза по сравнению с контролем. Гуминовые вещества не влияют на продолжительность лаг-фазы *Rh. erythropolis* S67, длительность которой соизмерима с контролем. Оптическая плотность в стационарной фазе в 2 раза меньше для *Rh. erythropolis* S67, чем в присутствии ГВ, что может быть связано с физиологическими эффектами ГВ, обусловленными их влиянием на энергетический метаболизм клетки [21].

Лаг-фаза *Rh. erythropolis* X5 в присутствии ГВ длится в 2 раза дольше, чем в среде, не содержащей ГВ. Увеличение лаг-фазы говорит об адаптации клеток к совместному сосуществованию в растворе с ГВ и подготовке к дальнейшему разложению их периферических фрагментов. Фаза логарифмического роста *Rh. erythropolis* X5 в присутствии ГВ протекает гораздо быстрее и достигает стационарной фазы за 28 ч. В стационарной фазе оптическая плотность клеточной суспензии микроорганизмов *Rh. erythropolis* X5 в присутствии гуминовых веществ сфагнового торфа в 2 раза больше относительно оптической плотности клеточной суспензии *Rh. Erythropolis* X5, не содержащей ГВ, и оптической плотности клеточной суспензии микроорганизмов *Rh. erythropolis* S67 с гуминовыми веществами.

Аппроксимировав участки экспоненциальной и логарифмической фаз (рис. 3) роста микроорганизмов *Rh. erythropolis* S67 и X5 в координатах «натуральный логарифм оптической плотности $\ln(D)$ от времени» получили значения удельной

скорости роста и времени удвоения биомассы, как тангенс угла наклона $\ln(D)=f(t)$ (уравнение 1).

$$\ln x = \ln x_0 + \mu t \quad (1)$$

где x_0 – биомасса в начальный момент времени $t=0$.

Зависимость $\ln X$ от времени будет иметь вид прямой с наклоном μ . Время удвоения биомассы (уравнение 2) – период, необходимый для удвоения числа клеток в экспоненциально растущей популяции. Зависимость между удельной скоростью роста и временем удвоения (t_d) биомассы находится исходя из следующих допущений: $x=2x_0$ (рис. 4).

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu} \quad [26] \quad (2)$$

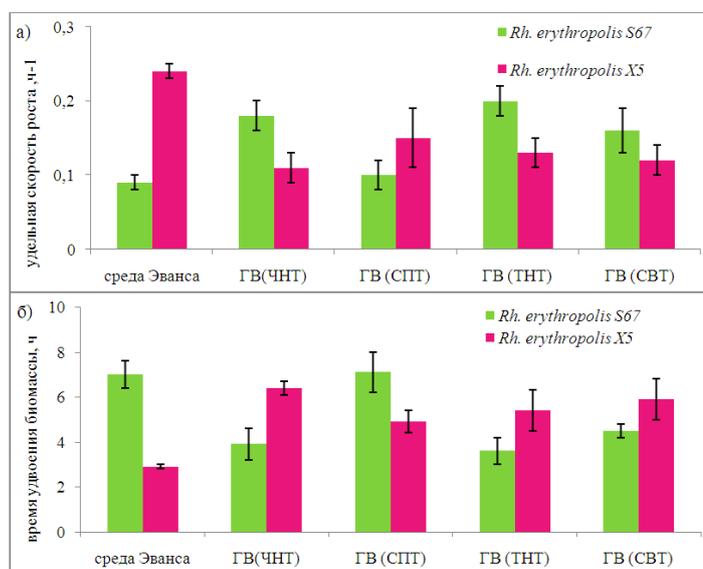


Рис. 4. Ростовые параметры микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *X5*: а) удельная скорость роста (μ), $ч^{-1}$. б) время удвоения биомассы, ч

Гуминовые вещества увеличивают удельную скорость роста и время удвоения биомассы для микроорганизмов *Rh. erythropolis S67*. Артефактом является соизмеримое значение удельной скорости роста и время удвоение биомассы микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* в присутствии гуминовых веществ тростникового торфа и контроля (рис. 4).

Наличие ГВ в растворе оказывает ингибирующее действие на рост микроорганизмов *Rh. erythropolis X5*, контрольные показатели роста в 2 раза превышают значения параметров роста в экспериментальных группах (рис. 4). Однако на рис. 3б виден стимулирующий эффект ГВ: увеличение в 2 раза оптической плотности культуральной среды в присутствии ГВ в стационарной фазе по сравнению с

контролем. Длительность адаптации *Rh. erythropolis X5* к среде с ГВ (рис. 3б) может указывать на активацию или даже синтез новых ферментов, необходимых для разложения ГВ, поэтому им необходимо большее время для удвоения биомассы.

Наблюдаемые в результате контакта ГВ с живыми организмами биологические эффекты связаны с возникающей у клеток возможностью более эффективного использования генерируемой ими энергии, запасаемой в виде АТФ, которая расходуется на регенерацию компонентов клетки, рост и размножение [3, 18].

Таким образом, наличие ГВ в растворе ведет к более интенсивному росту микроорганизмов. Результаты эксперимента служат основанием для применения ГВ в качестве стимуляторов роста микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *X5* нефтедеструкторов при их культивировании в бедных минеральных средах.

Следующим этапом работы являлось выявление влияния ГВ на рост клеток в присутствии детергента гексадекана, являющегося субстратом для микроорганизмов нефтедеструкторов *Rh. erythropolis S67* и *X5* [1, 22]. Концентрация гуминовых веществ в растворе составляла 50 мг/л, гексадекана 2об. %. Рост микроорганизмов в системе «гуминовые вещества – гексадекан – микроорганизм» оценивали также по кривым роста (рис. 5).

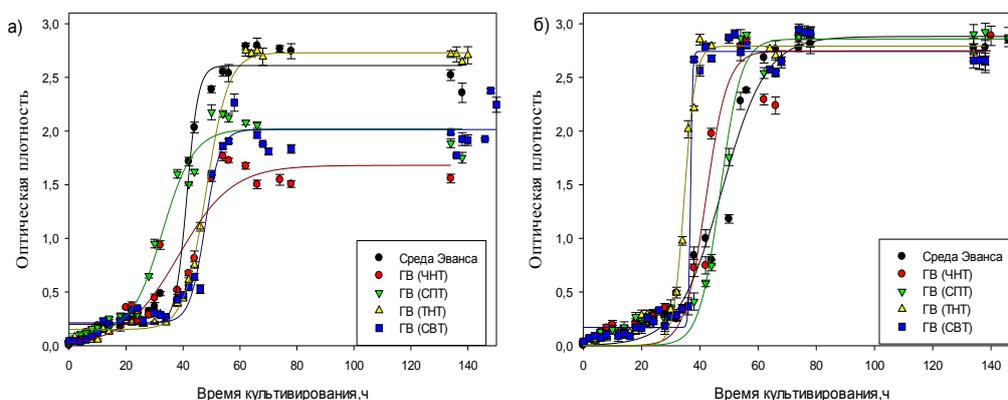


Рис. 5. Кривые роста в присутствии ГВ и гексадекана микроорганизмов а) *Rhodococcus erythropolis S67*, б) *Rhodococcus erythropolis X5*

Результаты эксперимента доказали: ГВ торфов проявляют детоксицирующую способность по отношению к нефтепродуктам (на примере гексадекана). В присутствии ГВ наблюдается увеличение оптической плотности культуральных растворов микроорганизмов по сравнению с контрольным: ГВ (ТНТ) и (СВТ) *Rh. erythropolis S67* (рис. 5а) и *Rh. erythropolis X5* (рис. 5б), что еще раз доказывает стимулирующее влияние ГВ на рост микроорганизмов нефтедеструкторов. Гуминовые вещества выступают адаптогенами по отношению к микроорганизмам, повышая их резистентность к стрессовым нагрузкам в условиях нефтяного стресса.

Экспериментально обнаружено, что оптическая плотность клеточной суспензии микроорганизмов *Rhodococcus* в присутствии гексадекана, являющегося субстратом для микроорганизмов, в 3 раза выше оптической плотности суспензии клеток в его

отсутствии (рис. 5), что еще раз подтверждает факт использования гексадекана данными микроорганизмами в качестве источника питания.

В присутствии субстрата продолжительность лаг-фазы микроорганизмов нефтедеструкторов *Rh. erythropolis S67* и *X5* увеличивается до 40 часов (рис. 5). Увеличение лаг-фазы говорит об адаптации клеток к совместному сосуществованию с гексадеканом и подготовкой клетки к его поглощению.

В присутствии субстрата-гексадекана, в стационарной фазе оптическая плотность клеточной суспензии микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* увеличивается в 1,5 раза в присутствии гуминовых веществ и не изменяется для *Rh. erythropolis X5*, что связано с различным физиологическим поведением двух штаммов бактерий [13].

Для полного анализа роста микроорганизмов рода *Rhodococcus* в присутствии гуминовых веществ и субстрата (гексадекана) анализировали параметры роста микроорганизмов (уравнение 1 и 2).

Введение в систему, состоящую из микроорганизмов и гексадекана, ГВ торфов различного генезиса активизирует рост микроорганизмов (рис. 6).

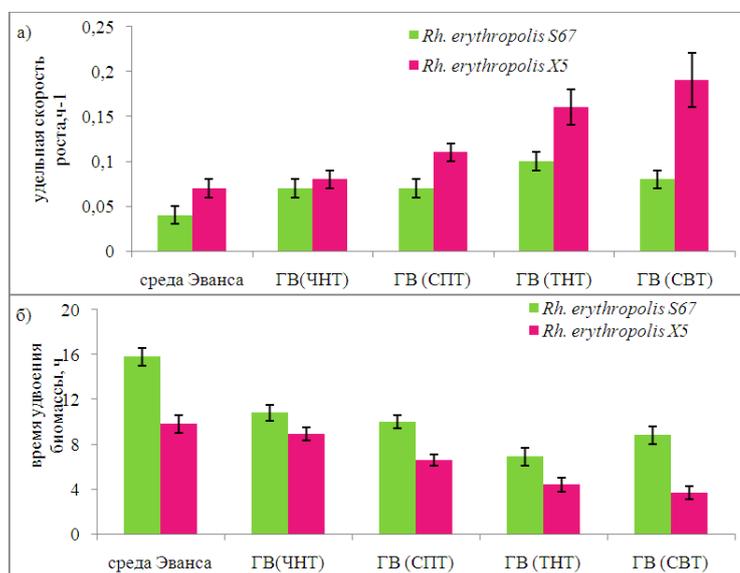


Рис. 6. Ростые параметры микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* и *X5* в системе «гуминовые вещества-гексадекан-микроорганизм» а) удельная скорость роста (μ), ч⁻¹ б) время удвоения биомассы, ч

В системе «микроорганизм *Rh. erythropolis X5* – гексадекан – гуминовые вещества (СВТ)» обнаружены максимальные ростые параметры: показатели в 2,6 раза выше, чем в системе «микроорганизм *Rh. erythropolis X5* – гексадекан» (рис. 6). Присутствие ГВ (СВТ) способствует более полной утилизации гексадекана микроорганизмами. Параметры роста *Rh. erythropolis X5* в 2 раза превышают параметры для *Rh. erythropolis S67*, которые, в свою очередь, в 2 раза превышают

ростовые параметры контроля. Биodeградация гексадекана микроорганизмами *Rh. erythropolis S67* начинается во внеклеточном растворе с образованием промежуточного метаболита – гексадекановой кислоты [24].

Гуминовые вещества торфов могут выступать в качестве адаптогенов по отношению к микроорганизмам нефтеструкторам *Rh. erythropolis S67* и *X5*, находящихся в стрессовых условиях, а именно в присутствии гексадекана как одного из представителей легкой фракции нефти. Эффект проявляется в улучшении показателей параметров роста: удельной скорости роста и времени удвоения биомассы в присутствии гуминовых веществ.

Гуминовые вещества, находящиеся в растворе, способствуют образованию полимолекулярного слоя на поверхности клеток микроорганизмов, что препятствует разложению и проникновению периферических частей молекулы ГВ, представленных остатками полисахаридов и аминокислот, как через клеточную мембрану, так и через гидрофобные каналы клеток. С помощью программы Tinkercad построена модель сорбционного слоя, состоящего из молекул гуминовых веществ на поверхности микроорганизмов рода *Rhodococcus* (рис. 7).

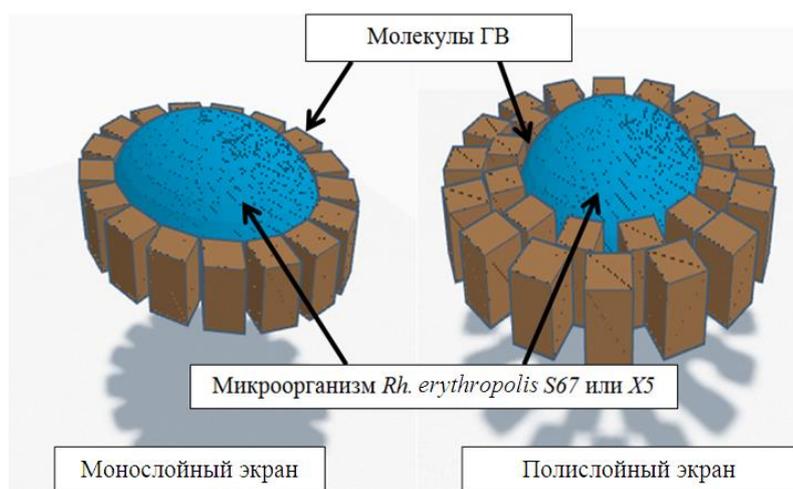


Рис. 7. Модель сорбционного слоя, состоящего из молекул гуминовых веществ на поверхности микроорганизмов рода *Rhodococcus*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлен стимулирующий эффект, проявляемый гуминовыми веществами торфов при концентрации 50 мг/л на рост и размножение микроорганизмов нефтеструкторов *Rh. erythropolis S67* и *X5*. Максимальный симулирующий эффект обнаружен у гуминовых веществ (ТНТ) и гуминовых веществ (СВТ): прирост биомассы микроорганизмов *Rh. erythropolis S67* увеличивается в 4 раза, а *Rh. Erythropolis X5* – в 5 раз относительно контроля, представленного бедной минеральной средой Эванса. Наличие ГВ в растворе приводит к увеличению

длительности лаг-фазы микроорганизмов *Rh. erythropolis X5*, что может указывать на синтез новых ферментов, необходимых для разложения ГВ данными бактериями.

Установлено, что гуминовые вещества выступают в качестве адаптогенов по отношению к микроорганизмам нефтедеструкторам *Rh. erythropolis S67 и X5*, находящихся в стрессовых условиях в присутствии гексадекана. Эффект проявляется в улучшении показателей параметров роста, что приводит к более быстрой биодеградации субстрата-гексадекана, а также росту и размножению бактерий за счет увеличения растворимости органического субстрата и созданию на клеточной поверхности монослойного экрана, представляющего собой сетчатый фильтр из молекул ГВ.

Результаты экспериментов служат основанием для дальнейшего изучения свойств и характеристик систем «гуминовое вещество – микроорганизм *Rh. erythropolis S67 и X5* – нефтепродукт» и получения на их основе химико-биологического сорбента для утилизации нефтеразливов в почвенных и водных средах.

Список литературы

1. Нечаева И. А. Биодеградация углеводородов нефти психротрофными микроорганизмами-деструкторами : дисс. канд. биол. Наук / И. А. Нечаева. – Пушино, 2009. – 175 с.
2. Гречищева Н. Ю. Разработка научных основ применения гуминовых веществ для ликвидации последствий нетезагрязнения почвенных и водных сред : дисс. канд. хим. наук / Н. Ю. Гречищева – М., МГУ, 2016. – 326 с.
3. Тихонов В. В. Действие гуминовых кислот на рост бактерий / В. В. Тихонов, А. В. Якушев, Ю. А. Завгородняя [и др.] // Почвоведение. – 2010. – № 3. – С. 333–341.
4. Демин В. В. Природа биологического действия гуминовых веществ. Часть 1. Основные гипотезы / В. В. Демин, Ю. А. Завгородняя, В. А. Терентьев // Доклады по экологическому почвоведению. – 2006. – Вып. 1, № 1. – С. 72–79.
5. Изосимов А. А. Физико-химические свойства, биологическая активность и детоксицирующая способность гуминовых препаратов, отличающихся генезисом органического сырья: дисс. канд. биол. наук / А. А. Изосимов. – М.: МГУ, 2016. – 148 с.
6. Novak J. Humic acids from coals of the North-Bohemian coal field - I. Preparation and characterization / J. Novak, J. Kozler, P. Janoš [et al.] // React. Funct. Polym. – 2001. – Vol. 47, № 2. – P. 101–109.
7. Бойкова О. И. Химические и биологические свойства торфов Тульской области / О. И. Бойкова, Е. М. Волкова // Известия ТулГУ. Естественные науки. – 2013. – Вып. 3. – С. 253–264.
8. Акатова Е. В. Детоксицирующая способность гуминовых веществ торфов различного происхождения по отношению к ионам тяжелых металлов / Е. В. Акатова, Е. Д. Дмитриева, К. В. Сюдюкова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2016. – № 1. – С. 119–127.
9. Дмитриева Е. Д. Биологическая активность гуминовых веществ сапропеля реки Упы Тульской области / Е. Д. Дмитриева, К. В. Сюдюкова, Е. В. Акатова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2016. – № 1. – С. 137–144.
10. Льюнг Т. М. Бактерии-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* – потенциальные продуценты биосурфактантов / Т. М. Льюнг, И. А. Нечаева, К. В. Петриков // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – № 1. – С. 50–60.
11. Evans C. G. T. The Continuous Cultivation of Micro-organisms: 2. Construction of a Chemostat / C. G. T. Evans, D. Herbert, D. W. Tempest // Methods Microbiol. – 1970. – Vol. 2, № C. – P. 277–327.
12. Нечаева И. А. Влияние физиологических особенностей бактерий рода *Rhodococcus* на деградацию н-гексадекана / И. А. Нечаева, Т. М. Льюнг, В. Э. Сатина [и др.] // Известия ТулГУ. Естественные науки. – 2016. – Вып. 1. – С. 90–98.

13. Luong T. M. Characterization of biosurfactants produced by the oil-degrading bacteria *Rhodococcus* sp. S67 at low temperature / T. M. Luong, O. N. Ponomoreva, I. A. Nechaeva [et al.] // *World Journal of Biotechnology and Microbiology*. – 2018. – Vol. 34 (2). – P. 20.
14. Семенов А. А. Влияние гуминовых кислот на устойчивость растений и микроорганизмов к воздействию тяжелых металлов: автореф. дисс. канд. биол. наук / А. А. Семенов // М.: МГУ, 2009. – 26 с.
15. Демин В. В. Природа биологического действия гуминовых веществ. Часть 2. Локализация биопротекторного действия гуминовых веществ в почвах / В. В. Демин, М. В. Бирюков, А. А. Семенов [и др.] // *Доклады по экологическому почвоведению*. – 2006. – Вып. 1, № 1. – С. 80–91.
16. Безуглова О. С. Гуминовые препараты как стимуляторы роста растений и микроорганизмов (обзор) / О. С. Безуглова, Е. А. Полиенко, А. В. Горюнов // *Известия ОГАУ*. – 2016. – № 4. – С. 11–14
17. Sandor F. The effect of humic substances on nitrogen mineralization / F. Sandor // *Geophys. Res. Abstr.* 2011. – Vol. 13, № 94. – P. 6856–6856.
18. Каримова В. Т. Влияние гуминовых веществ торфов Тульской области на рост микроорганизмов деструкторов нефти *Rhodococcus erythropolis* S67 и *Rhodococcus erythropolis* X5 / В. Т. Каримова, Е. Д. Дмитриева, И. А. Нечаева // *Известия ТулГУ. Естественные науки*. – 2017. – № 2. – С. 60–68.
19. Дмитриева Е. Д. Молекулярно-массовое распределение гуминовых веществ и гиматомелановых кислот торфов различного генезиса Тульской области / Е. Д. Дмитриева, М. М. Леонтьева, К. В. Сяндюкова [и др.] // *Химия растительного сырья*. – 2017. – № 4. – С. 187–194.
20. Постникова М. А. Использование гуминовых кислот почвенными бактериями: автореф. дисс. канд. биол. наук / М. А. Постникова – М., МГУ, 2007. – 27 с.
21. Христева Л. А. Роль гуминовой кислоты в питании высших растений и гуминовые удобрения / Л. А. Христева // *Тр. Почв. ин-та им. В. В. Докучаева*. – М., 1951. – Т. 38. – С. 108–184.
22. Нечаева И. А. Влияние физиологических особенностей бактерий рода *Rhodococcus* на деградацию н-гексадекана / И. А. Нечаева, Т. М. Лыонг, В. Э. Сатина [и др.] // *Известия ТулГУ. Естественные науки*. – 2016. – № 1. – С. 77–90.
23. Дагуров А. В. О механизме антидотного действия гуматов по отношению к нефтепродуктам / А. В. Дагуров, Д. И. Стом, О. Ф. Вятчина [и др.] // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2005. – № 6. – С. 143–146.
24. Dercova K. Bioremediation of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) using humic acids bound on zeolite / K. Dercova, Z. Sejková, M. Skokanova [et al.] // *Chemosphere*. – 2007. – 66. – P. 783–790.
25. Лыонг Т. М. Структура и физико-химические свойства гликолипидных биосурфактантов, продуцируемых бактериями-нефтедеструкторами *Rhodococcus* sp. X5 / Т. М. Лыонг, И. А. Нечаева, К. В. Петриков [и др.] // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. – 2017. – Т. 7, №2. – С. 72–79.
26. Биоиндикация. Биотестирование. Биосенсоры: теоретические основы методов и их практическое применение // Учебное пособие. – Тула: ТулГУ, 2016. – 232 с.

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF HUMIC SUBSTANCES OF PEATS ON THE GROWTH PARAMETERS OF MICROORGANISMS DEGRADERS OF OIL *RHODOCOCCUS* GENUS IN THE PRESENCE OF HEXADECANE

Dmitrieva E. D., Leontyeva M. M., Karimova V. T.

*Tula State University, Tula, Russia
E-mail: dmitrieva_ed@rambler.ru*

The maximum stimulating effect on the growth of microorganisms is exerted by humic substances of sphagnum high moor peat: the biomass of *Rh. erythropolis* X5 increased in 5 times as compared to the control. Humic substances of reed fen peat

influence on the growth of *Rh. erythropolis* S67 to the best advantage: the biomass increased in 4 times as compared to the control. Thus it can be argued that humic substances have no inhibitory effect on the growth of microorganisms, but on the contrary, at the concentration of 50 mg / l, they have a stimulating effect on microorganisms of the genus *Rhodococcus*, capable of using humic substances as a source of carbon and energy. However, it should be noted that humic substances isolated from different peats have different influences on the growth of microorganisms *Rh. erythropolis* S67 and X5, which is due both to differences in the physiology of microorganisms and to the features of the molecular mass composition of humic substances. Obviously, humic substances containing fractions with a lower molecular mass, which are humic substances of reed fen peat, have an increased stimulating effect due to the possibility of penetration into the cell through the cell membrane of low molecular weight fractions.

Humic substances of peats show detoxifying ability in the relation to petroleum products, for example hexadecane. In the presence of humic substances, an increase in the optical density of culture solutions of microorganisms is observed as compared to the control: humic substances of reed fen peat and sphagnum high moor peat *Rh. erythropolis* S67 and *Rh. erythropolis* X5, which once again proves the stimulating effect of humic substances on the growth of microorganisms oil destructors.

There was analysis of the growth parameters of microorganisms to fully research the growth of microorganisms of the genus *Rhodococcus* in the presence of humic substances and substrate (hexadecane).

Introduction humic substances of peats of different genesis to a system consisting of microorganisms and hexadecane, activates the growth of microorganisms.

Maximum growth parameters were found in the system «microorganism *Rh. erythropolis* X5 – hexadecane – humic substances of sphagnum high moor peat»: the indices are 2.6 times higher than in the system «microorganism *Rh. erythropolis* X5-hexadecane». The presence of humic substances of sphagnum high moor peat promotes more complete utilization of hexadecane by microorganisms. *Rh. erythropolis* X5 growth parameters is 2 times higher than the parameters of *Rh. erythropolis* S67, which in turn are 2 times higher than the growth parameters of the control. Biodegradation of hexadecane with microorganisms *Rh. erythropolis* S67 begins in an extracellular solution with the formation of an intermediate metabolite-hexadecanoic acid.

Humic substances of peats can act as adaptogens in the relation to microorganisms oil destructors *Rh. erythropolis* S67 and X5 are under stressful conditions, namely in the presence of hexadecane, as one of the representatives of the light fraction of oil. The effect is manifested in the improvement of parameters of growth parameters: specific growth rate and time of biomass doubling in the presence of humic substances.

Humic substances in solution promote the formation of a polymolecular layer on the surface of microorganism cells, which prevents the decomposition and penetration of peripheral parts of the molecule of humic substances represented by residues of polysaccharides and amino acids, both through the cell membrane and through the hydrophobic channels of cells.

The results of the experiments serve as the basis for further study of the properties and characteristics of the systems «humic substance-microorganism *Rh. erythropolis* S67

and X5-oil» and the production on their basis of a chemical-biological sorbent for utilization of oil spills in soil and water environments.

Keywords: humic substances, microorganisms oil destructors, growth parameters, oil products.

References

1. Nechaeva I. A. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by psychrotrophic microorganisms-destructors of diss. Cand. Biol. Sciences, 175 p. (Pushchino, 2009).
2. Grechishcheva N. Yu. Development of scientific foundations for the application of humic substances for the elimination of the consequences of non-contamination of soil and water environments. Cand. chem. Sciences, 326 p. (M., Moscow State University, 2016).
3. Tikhonov V. V., Yakushev A. V., Zavgorodnyaya Yu. A. [et al.] The effect of humic acids on bacterial growth, *Pochvovedenie*, **3**, 333 (2010).
4. Demin V. V., Zavgorodnyaya Yu. A., Terentev V. A. The nature of the biological effect of humic substances. Part 1. Main hypotheses, *Reports on Environmental Soil Science*, **1**, **1**, 72 (2006).
5. Izosimov A. A. *Physical and chemical properties, biological activity and detoxifying ability of humic preparations differing in the genesis of organic raw materials*: diss. Biol., 148 p. (M., Moscow State University, 2016).
6. Novák J., Kozler J., Janoš P. [et al.] Humic acids from the coals of the North-Bohemian coal field I. Preparation and characterization, *React. Funct. Polym.*, **47**, **2**, 101 (2001).
7. Boykova O. I., Volkova E. M. Chemical and biological properties of peat of the Tula region, *Izvestiia Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki*, **3**, 253 (2013).
8. Akatova E. V., Dmitrieva E. D., Syundyukova K. V. [et al.] Detoxifying capacity of humic substances from different origin peats of Tula region in relation to heavy metal ions, *Chemistry of plant raw materials*, **1**, 119 (2016).
9. Dmitrieva E. D., Syundyukova K. V., Akatova E. V. [et al.] Biological activity of humic substances sapropel Upa river Tula region, *Chemistry of plant raw materials*, **1**, 137 (2016).
10. Lyong T. M., Nechaev I. A., Petrikov K. V. Bacteria-oil destructors of the genus *Rhodococcus* are potential producers of biosurfactants, *Izvestiya Vuzov. Applied chemistry and biotechnology*, **1**, 50 (2016).
11. Evans C. G. T., Herbert D., Tempest D. W. The Continuous Cultivation of Micro-organisms: 2. Construction of a Chemostat, *Methods Microbiol.*, **2**, **C**, 277 (1970).
12. Nechaeva I. A., Luong T. M., Satina V. E. [et al.] influence of physiological features of bacteria of the genus *Rhodococcus* on the degradation of n-hexadecane, *Izvestiia Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki*, **1**, 90 (2016).
13. Luong T. M., Ponamareva O. N., Nechaeva I. A. [et al.] Characterization of biosurfactants produced by the oil-degrading bacteria *Rhodococcus* sp. S67 at low temperature, *World Journal of Biotechnology and Microbiology*, **34** (**2**), 20 (2018).
14. Semenov A. A. *Effect of humic acids on the resistance of plants and microorganisms to the effects of heavy metals*. diss. Biol., 26 p. (M., Moscow State University, 2009).
15. Demin V. V., Biryukov M. V., Semenov A. A. [et al.] Nature of biological action of humic substances. Part 2. Localization of the bioprotective action of humic substances in soils, *Reports on Environmental Soil Science*, **1**, **1**, 80 (2006).
16. Bezuglova O. S., Polienko E. A., Gorovtsov A. V. Humic preparations as growth stimulators of plants and microorganisms (review), *Proceedings of the OGAU*, **4**, 11 (2016).
17. Sandor F. The effect of humic substances on nitrogen mineralization, *Geophys. Res. Abstr.*, **13**, **94**, 6856 (2011).
18. Karimova V. T., Dmitrieva E. D., Nechaev I. A. The effect of humic substances from different origin peats of the Tula region on the growth of microbial degraders of oil *Rhodococcus erythropolis* S67 and *Rhodococcus erythropolis* X5, *Izvestiia Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki*, **2**, 60 (2017).

19. Dmitrieva E. D., Leontief M. M., Syundyukova K. V. [et al.] Molecular-mass distribution of humic substances and hyamomelanic acids from different originpeats genesis of the Tula region, *Chemistry of plant raw materials*, **4**, 187 (2017).
20. Postnikova M. A. *The use of humic acids by soil bacteria*. diss. Biol. Sciences, 27 p. (M., Moscow State University, 2007).
21. Khristeva L. A. The role of humic acid in the nutrition of higher plants and humic fertilizers, *Tr. Pochv. Institute for them. V. V. Dokuchaev*, **38**, 108 (M., 1951).
22. Nechaeva I. A., Luong T. M., Satina V. E. [et al.] Influence of physiological features of Rhodococcusbacteria on hexadecane degradation, *Izvestiia Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki*, **1**, 77 (2016).
23. Dagurov A. V., Stom D. I., Vyatchina O. F. [et al.] On the mechanism of antidote action of humates in relation to petroleum products, *ActaBiomedica Scientifica*, **6**, 143 (2005).
24. Dercova K., Sejáková Z., Skokanova M. [et al.] Bioremediation of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) using humic acids bound on zeolite, *Chemosphere*, **66**, 783 (2007).
25. Lyong T. M., Nechaev I. A., Petrikov K. V. [et al.] Structure and physico-chemical properties of glycolipid biosurfactants produced by the bacteria-oil destructors Rhodococcus sp. X5, *Izvestiya Vuzov. Applied chemistry and biotechnology*, **7**, **2**, 72 (2017).
26. *Bioindication. Biotesting. Biosensors: theoretical bases of methods and their practical application*, Textbook, Tula (Publishing house of Tula State University, 2016).

УДК 615.2/.3(045)

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ С ЦЕЛЬЮ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО- СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Елаева Е. Е., Якимова Е. А., Комарова Н. А.

*ФГБОУ ВО «Мордовский государственный педагогический институт
имени М. Е. Евсевьева», Саранск, Россия
E-mail: yakimovalena@mail.ru*

Среди заболеваний сердечно-сосудистой системы особое место отводится нарушениям сердечного ритма, которые рассматриваются как самое распространенное осложнение инфаркта миокарда, являясь зачастую предвестниками неблагоприятного. Наличие большого количества побочных, в том числе аритмогенных, эффектов значительно ограничивает применение имеющихся антиаритмиков в ряде клинических ситуаций, угрожающих жизни больного, в частности при инфаркте миокарда. Сложность, многообразие и широкая распространенность нарушений сердечного ритма диктуют необходимость поиска новых эффективных и нетоксичных противоаритмических препаратов, воздействующих на первичные звенья аритмогенеза. В статье проведен анализ возможностей применения фармакологических препаратов метаболического типа действия для коррекции предпатологических и патологических изменений сердечно-сосудистой системы.

Ключевые слова: патология сердечно-сосудистой системы, кардиопротекторное действие, адаптация, аминокислоты.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из приоритетных направлений современного здравоохранения является поиск наиболее безопасных методов лечения кардиологической патологии. Наиболее грозными осложнениями заболеваний сердца, значительно увеличивающими прогрессирование сердечной недостаточности и риск внезапной смерти, являются нарушения ритма. Несмотря на то, что аритмии не являются нозологической формой, а представляют собой симптом заболеваний сердца и связанных с ним систем, нередко они могут иметь самостоятельное, urgentное клиническое значение [1–3].

Сердечно-сосудистая система с ее нейрогуморальным аппаратом реагирует на малейшие изменения потребности разных органов и систем в кровоснабжении и обеспечивает согласование кровотока в них с гемодинамическими параметрами на организменном уровне. Все это дает основание рассматривать систему кровообращения в качестве универсального индикатора адаптационно-приспособительной деятельности целостного организма. Оценка деятельности сердечно-сосудистой системы является показательной и часто используемой, так как гемодинамические изменения в различных органах обычно возникают раньше

метаболических и изменения энергетических процессов в миокарде предшествуют снижению его сократительной способности, а значит и развитию нарушений кровообращения [2, 4, 5].

Основной причиной развития таких нарушений является повсеместное снижение двигательной активности, усложнение содержания образовательного процесса, увеличение нервно-психического напряжения в учебной и повседневной деятельности и, как следствие, прогрессирование нарушений сердечно-сосудистой системы. Актуальность проблемы определяется настоящей необходимостью разработки новых адресно направленных на конкретную нозологическую группу безопасных лекарственных препаратов [1].

В настоящее время для лечения патологии со стороны сердечно-сосудистой системы существует большой арсенал как медикаментозных, так и немедикаментозных методов. Однако несмотря на то, что в последние годы достигнуты несомненные успехи в профилактике и лечении данных нарушений, разработаны новые эффективные препараты, актуальной проблемой остается развитие их нежелательных побочных эффектов, из которых наиболее опасными являются кардиотоксические. Их морфологической основой являются индуцированные ими же изменения ультраструктурной организации миокарда, сопряженные с нарушением потребления кислорода кардиомиоцитами и ионным дисбалансом [6].

Исследованиями последних лет показано, что перспективным путем предупреждения альтеративных изменений сердечно-сосудистой системы является применение веществ, обладающих метаболическим типом действия, которые в большинстве своем характеризуются малой токсичностью и в то же время широким спектром фармакологического и терапевтического действия [1, 2].

Аминокислоты являются составной частью ферментов, гормонов, витаминов и других биологически активных веществ. Недостаток или избыток их приводит к нарушению важнейших функций организма. К настоящему времени накоплен огромный фактический материал об участии биологически активных пептидов и отдельных аминокислот в различных физиологических процессах в норме и патологии, в том числе их действии на сердечную мышцу. Пример – нейротензин, включающий в свой состав 13 аминокислот, при применении которого увеличивается частота сердечных сокращений, повышается сократительная способность миокарда и изменяется характер парасимпатической регуляции ритма сердца [2, 3].

Учитывая вышеизложенное, для нас представляло интерес исследование возможности применения аминокислот для профилактики и коррекции предпатологических и патологически изменений миокарда, возникающих под влиянием агрессивных факторов современности. В нашем случае таким фактором является адреналин, оказывающий альтеративное воздействие на кардиомиоциты в стрессовых ситуациях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для моделирования кардиотоксического действия адреналина мы вызывали нарушения сердечного ритма его внутривенным введением в виде 0,1 % раствора в дозе 16 мг/кг у белых мышей массой 18–20 г. Испытуемые вещества вводили в хвостовую вену за 5 мин. до инъекции аритмогенного фактора. Запись электрокардиограммы проводили по стандартной методике во II отведении на протяжении всего эксперимента.

В качестве экспериментальных кардиопротекторных средств мы использовали композиции, отличающиеся качественным и количественным содержанием следующих аминокислот: лейцин, изолейцин, валин, триптофан, фенилаланин, метионин, лизин, гистидин, серин, глутамин (композиция № 4), лейцин, изолейцин, валин, триптофан, фенилаланин, метионин, лизин, гистидин, серин, глутамин (композиция № 6), гистидин (композиция № 7). Кроме того, изучалась аминокислота L-пролин, проявившая наибольшую антиаритмическую активность на скрининговых моделях аритмий.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На описанной выше модели нарушений сердечного ритма противоаритмическую активность исследуемых веществ оценивали по их способности предупреждать появление преждевременных желудочковых комплексов или ослаблять их тяжесть, что выражалось в уменьшении частоты эктопических сокращений (ЧЭС). Кроме того, оценивалась способность исследуемых веществ предупреждать гибель мышей, вызванную введением адреналина гидрохлорида.

Все исследуемые соединения (L-пролин, композиции № 4, № 6 и № 7) и препарат сравнения обзидан вводили в хвостовую вену за 5 мин. до инъекции 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида, объем которого не превышал 0,5 мл. Результаты представлены в таблице 1.

В контрольной серии экспериментов (n=18) введение раствора адреналина гидрохлорида в дозе 16 мг/кг через 140 ± 18 секунд вызвало появление желудочковых экстрасистол с ЧЭС 123 ± 29 в мин. при общей частоте сердечных сокращений (ЧСС) 485 ± 20 в мин. у 12 животных (67 %). Блокады проведения импульса по миокарду возникали у 6 животных (33 %). Летальность в контрольной группе составила 56 %.

Обзидан в дозе 1,0 мг/кг (n=7) проявил выраженный противоаритмический эффект ($P < 0,05$) на данной экспериментальной модели. В то же время на фоне действия препарата увеличился риск развития нарушений проводимости с 33 % в контроле до 71 %. В 1 (14 %) случае через 290 с после введения аритмогенного фактора возникла ЖЭ с ЧЭС 196 в мин. Продолжительность аритмии составила 85 с., а летальность возникла у 2 животных (29 %) против аналогичных показателей в контрольной серии экспериментов, которые составили соответственно 298 ± 19 с и 56 %.

Таблица 1

Исследование антиаритмической активности испытуемых соединений и препарата сравнения на модели адреналиновых аритмий

Испытуемое соединение	Доза, мг/кг	Количество животных			Исход. ЧСС (M±m)	ЧСС после введения в-ва (M±m)	Летальность, n (%)
		в опыте, n	у которых возникли				
			ЖЭ, n (%)	нарушения проводимости, n (%)			
Контроль	-	18	12 (67%)	6 (33%)	485±20	-	10 (56%)
Обзидан	1,0	7	1 (14%)*	5 (71%)	476±23	420±3	2 (29%)
L-пролин	10,0	8	0 (0%)*	8 (100%)	353±29	396±41	1 (13%)*
Композиция 4	200,0	8	2 (25%)*	1 (13%)	345±15	356±25	1 (13%)*
Композиция 6	1000,0	8	0 (0%)*	5 (63%)	450±11	488±14	2 (25%)
Композиция 6	500,0	6	1 (17%)*	4 (67%)	390±26	377±24	0 (0%)*
Композиция 6	200,0	6	1 (17%)	2 (33%)	350±24	370±18	0 (0%)*
Композиция 7	10,0	8	2 (25%)*	1 (13%)	330±16	375±22	0 (0%)*

Введение L-пролина в дозе 100 и 50 мг/кг у всех исследованных животных вызвало атриовентрикулярные нарушения проводимости III степени и вследствие этого – гибель. Снижение дозы до 10 мг/кг не ухудшило проводимость, но введение адреналина гидрохлорида на фоне этой дозы аминокислоты через 21±9 с вызвало во всех случаях блокаду проведения импульса по миокарду длительностью 154±12 с. Однако желудочковую экстрасистолию вещество предупреждало у всех 8 животных. Летальность также была достоверно предупреждена (13 % против 56 % в контрольной серии экспериментов).

Композиция № 4 (1000 мг/кг) достоверно предупредила частоту возникновения желудочковой экстрасистолии (25 % против 67 % в контрольной серии) и снизила летальность с 56 % до 13 % (P<0,05). Нарушение проводимости возникло в 1 случае.

Применение композиции № 6 в дозе 200 мг/кг снизило частоту возникновения нарушений сердечного ритма на 50 % и во всех случаях предупредило летальность. Увеличение дозы до 500 мг/кг не привело к повышению противоаритмической активности соединения. Использование дозы 1000 мг/кг полностью предупредило желудочковую экстрасистолию (ЖЭС), однако не повлияло на летальность экспериментальных животных.

Композиция № 7, изученная в дозе 10 мг/кг, полностью предупредила гибель животных и достоверно снизила риск возникновения адреналиновых аритмий.

Следовательно, все исследованные соединения проявили на данной модели противоаритмическую активность и не уступали препарату сравнения обзидану по способности предупреждать желудочковую экстрасистолию, а комбинации № 4, № 6 в одной из примененных доз и композиция № 7 предупреждали летальность подопытных животных, чем выгодно отличались от препаратов сравнения (рисунок 1).

Антиаритмическое действие аминокислот можно объяснить несколькими

механизмами, одним из которых является взаимодействие тестируемых субстратов со специфическими рецепторными структурами. Так, к настоящему времени идентифицированы рецепторы гамма-аминомасляной кислоты, таурина, глутамата, аспартата. В исследованиях В. К. Рыбальченко и соавт. (1991) показано, что нонапептидный тканевой гормон, включающий в свой состав пролин и другие аминокислоты, проявляет широкий спектр биологической активности на сердечно-сосудистую систему и одним из ранних этапов действия его является связывание с липидным матриксом плазматической мембраны эффекторной клетки [3].

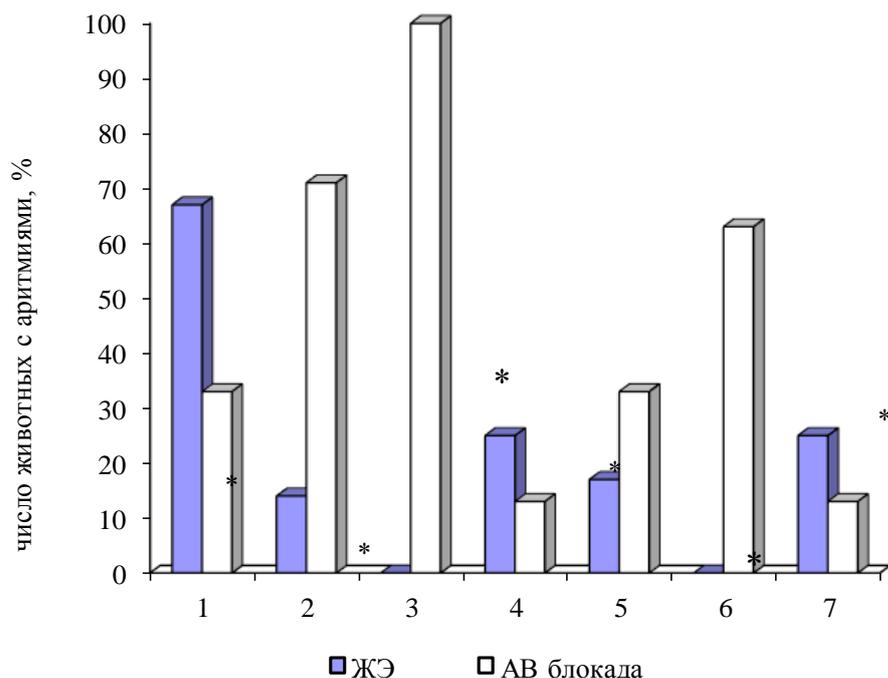


Рис. 1. Антиаритмическая активность испытуемых соединений и препарата сравнения на модели адреналиновых аритмий
 *– достоверность различия рассчитана при $P < 0,05$; 1 – контроль; 2 – обзидан (1 мг/кг); 3 – L-пролин (10 мг/кг); 4 – композиция № 4 (1000 мг/кг); 5 – композиция № 6 (200 мг/кг); 6 – композиция № 6 (1000 мг/кг); 7 – композиция № 7 (10 мг/кг)

Изменения, возникающие при альтерации миокарда любого генеза и влекущие за собой нарушения сердечного ритма, могут быть скорректированы применением аминокислот, которые, являясь интермедиатами цикла Кребса, оказывают неспецифическое воздействие на обменные процессы в миокарде [1].

С позиций возможного включения аминокислот в биоэнергетику миокарда в условиях ишемии потенциально наиболее активными из исследуемых являются аспарагин, гистидин и глутамин, то есть те, которые не требуют для своего

превращения в субстраты цикла Кребса АТФ и окисленных форм ферментов [6].

Имеются данные, что серусодержащие аминокислоты, являясь донаторами тиоловых групп, уменьшают или устраняют гистотоксическую гипоксию миокарда, возникающую под влиянием адреналина, восстанавливают сократительную способность и нормализуют ритм сердца [1].

В механизме аритмогенного действия тирозина, являющегося предшественником катехоламинов, существенную роль играет, видимо, его способность в больших дозах активировать симпатическую иннервацию. Данное обстоятельство в большинстве случаев играет решающую роль в развитии эктопической автоматии [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Коррекция нарушений сердечного ритма остается актуальной проблемой современной кардиологии. Несмотря на большое количество лекарственных препаратов, не каждый соответствует требованиям клиницистов из-за их недостаточной эффективности и наличия побочных эффектов.

Перспективным является создание новых лекарственных средств на базе естественных метаболитов. Эта область экспериментальной фармакологии, несмотря на обилие теоретических работ и опубликование ряда монографий, пока находится на стадии становления.

Одним из направлений фармакотерапии является комбинированное применение лекарственных средств, позволяющих использовать феномен потенцирования и одновременно воздействовать на ряд звеньев патологического процесса.

Таким образом, можно заключить, что применение композиций, созданных на основе аминокислот, может оптимизировать фармакокоррекцию нарушений сердечного ритма в кардиологической практике. Малая токсичность и преимущественное воздействие на метаболические процессы миокарда теоретически дает возможность применения данных соединений людям молодого возраста для коррекции некоторых предпатологических и патологических состояний сердечно-сосудистой системы без определенного риска развития кардиотоксических осложнений.

Результаты исследований служат обоснованием для продолжения исследований по разработке новых высокоэффективных кардиопротекторных средств.

Список литературы

1. Лишманов Ю. Б. Противоаритмический эффект опиоидного пептида ноцицептина и его воздействие на быстрые натриевые каналы / Ю. Б. Лишманов, А. В. Крылатов, Л. Н. Маслов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – № 12. – С. 655–658.
2. Либис Р. А. Оценка качества жизни у больных с аритмиями / Р. А. Либис, А. Б. Прокофьев, Я. И. Коц // Кардиология. – 1997. – № 3. – С. 49–52.
3. Рыбальченко В. К. Взаимодействие брадикинина и составляющих его аминокислот с липидными монослоями / В. К. Рыбальченко, В. С. Гевод, А. М. Шамонина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1991. – № 7. – С. 64.

4. Игнатъева Л. Е. Исследование индивидуального «вегетативного портрета» и функционального состояния сердечной мышцы юных биатлонистов / Л. Е. Игнатъева, Е. Е. Елаева, Ю. В. Киреева, А. С. Каирова // Культура физическая и здоровье: научно-методический журнал. – 2016. – № 5(60). – С. 19–24.
5. Yakimova E. A. Seasonal features of the clotting reactions to physical load / E. A. Yakimova, E. E. Elaeva, L. V. Grizlova. – Advances in Environmental Biology. – 2014. – № 8 (10). – P. 313–317.
6. Dollins A. B. L-tyrosine ameliorates some effects of lower body negative pressure stress. / Dollins A. B., Krock L. P., Storm W. F. [et al.] // Physiol. Behav. – 1995. – 57(2). – P.223–230.

POSSIBILITY OF USING AMINO ACIDS WITH THE PURPOSE OF CORRECTION OF FUNCTIONAL STATE OF CARDIOVASCULAR SYSTEM

Elaeva E. E., Yakimova E. A., Komarova N. A.

*Mordovian State Pedagogical Institute named after M. E. Evsejev, Saransk, Russia
E-mail: yakimovalena@mail.ru*

In modern conditions of social and economic development of Russian society, the problem of maintaining human health is one of the leading. Among diseases of the cardiovascular system, a special place is given to cardiac rhythm disturbances, which are considered to be the most common complication of myocardial infarction, often being harbingers of the unfavorable. Sudden cardiac death, caused in a large percentage of cases by ventricular fibrillation, is one of the most serious problems of modern cardiology, not only because of dramatic, but also because of high. Currently, there is a large arsenal of antiarrhythmic drugs, but their use is associated with a known risk, since many of these drugs can cause severe violations of atrioventricular and intraventricular conduction. The presence of a large number of side effects, including arrhythmogenic effects, significantly limits the use of existing antiarrhythmics in a number of clinical situations that threaten the life of the patient, in particular, with myocardial infarction. The complexity, diversity and wide prevalence of cardiac arrhythmia dictate the need to search for new effective and non-toxic antiarrhythmic drugs that affect the primary links of arrhythmogenesis.

The article analyzes the possibilities of using pharmacological preparations of metabolic type of action for correction of pre-pathological and pathological changes in the cardiovascular system. To model the cardiotoxic effect of epinephrine, we caused disturbances in the heart rhythm by its intravenous injection. As experimental cardioprotective agents, we used compositions characterized by the qualitative and quantitative content of the following amino acids: Leucine, isoleucine, valine, tryptophan, phenylalanine, methionine, lysine, histidine, serine, glutamine, leucine, isoleucine, valine, tryptophan, phenylalanine, methionine, lysine, histidine, serine, glutamine, histidine. In addition, we studied the amino acid L-proline, which showed the greatest anti-arrhythmic activity in screening models of arrhythmias. In the above model of cardiac rhythm disturbances, the antiarrhythmic activity of the test substances was assessed by their ability to prevent premature ventricular complexes or weaken their severity, which was expressed in a decrease in the frequency of ectopic contractions (BSEC). In addition, the ability of the test substances to prevent mice death caused by the administration of

epinephrine hydrochloride was assessed. It was revealed that all the compounds studied showed antiarrhythmic activity and were not inferior to the comparison drug obzidan by the ability to prevent ventricular extrasystole, and certain combinations prevented the lethality of experimental animals, which favorably differed from the comparators. Thus, it can be concluded that the use of compositions based on amino acids can optimize the pharmacocorrection of cardiac rhythm disturbances in cardiac practice. The low toxicity and the predominant effect on the metabolic processes of the myocardium theoretically makes it possible to use these compounds for young people to correct some of the pre-pathological and pathological conditions of the cardiovascular system without a definite risk of developing cardiotoxic complications. The results of the studies serve as a rationale for continuing research on the development of new highly effective cardioprotective agents.

Keywords: pathology of the cardiovascular system, cardioprotective action, students, adaptation, amino acids.

References

1. Lishmanov Yu. B., Krylatov A. V., Maslov L. N. Antiarrhythmic effect of the opioid peptide nociceptin and its effect on fast sodium channels, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **12**, 655 (1998).
2. Libis R. A., Prokofiev A. B., Kots Ya. I. Evaluation of the quality of life in patients with arrhythmias, *Cardiology*, **3**, 49 (1997).
3. Rybalchenko V. K., Gevod V. S., Shamonina A. M. Interaction of bradykinin and its constituent amino acids with lipid monolayers, *Bulletin of experimental biology and medicine*, **7**, 64 (1991).
4. Ignatieva L. Ye., Elaeva E. E., Kireeva Yu. V., Kairova A. S. Research of the individual "vegetative portrait" and functional state of the cardiac muscle of young biathletes, *Physical and health culture : scientific and methodical journal*, **5 (60)**, 19 (2016).
5. Yakimova E. A., Elaeva E. E., Grizlova L. V. Seasonal features of the clotting reactions to physical load, *Advances in Environmental Biology*, **8 (10)**, 313 (2014).
6. Dollins A. B., Krock L. P., Storm W. F. et al. L-tyrosine ameliorates some effects of lower body negative pressure stress, *Physiol. Behav.*, **57 (2)**, 223 (1995).

УДК 636.082.12:636.22/.28

ПОКАЗАТЕЛИ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КОРОВ, ПРИНАДЛЕЖАЩИХ К РАЗНЫМ ЛИНИЯМ БЫКОВ

Еременко В. И., Стасенкова Ю. В.

*Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И. И. Иванова, Курск, Россия
E-mail: vic.eriomenko@yandex.ru*

Практически ценным представляется изучение показателей естественной резистентности у коров, принадлежащих к различным линиям быков. Это позволит выявить животных, принадлежащих к определенной линии быка, с более высокими показателями естественной резистентности, таких как бактерицидная (БАСК), лизоцимная (ЛАСК) активность сыворотки крови и общих иммуноглобулинов. В связи с этим была поставлена задача определить наиболее резистентную линию коров, принадлежащих к линиям быков Ромулус, Редад, Хаксл и Хониг. Исследования были проведены на коровах 2-й лактации симментальской породы, которые принадлежали к разным линиям, по 10 голов в каждой группе. В крови определяли бактерицидную, лизоцимную активность сыворотки крови и общие иммуноглобулины. Продуктивность животных была практически одинаковой – на уровне 10600–11000 кг за лактацию. В результате проведенных исследований было установлено, что между уровнем молочной продуктивности коров в течение лактации и изучаемыми показателями установлена отрицательная корреляция, которая составляла от $r = -0,63$ – $0,89$ в зависимости от показателей. Более высокие показатели БАСК, ЛАСК и общих иммуноглобулинов были у коров линии быка Ромулус по сравнению с коровами линии быков Редад, Хаксл и Хониг. Это позволяет рекомендовать как более резистентную линию коров быка Ромулус для преимущественного использования в селекционной работе со стадом коров.

Ключевые слова: бактерицидная, лизоцимная активность сыворотки крови (БАСК, ЛАСК), общие иммуноглобулины, линии коров быка Ромулус, Редад, Хаксл и Хониг.

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим показателем уровня развития молочного скотоводства является качество ведения селекции животных. В настоящее время селекционная работа, как правило, направлена на увеличение уровня молочной продуктивности скота. Однако односторонняя селекция, связанная с увеличением продуктивности, приводит к снижению адаптивных свойств организма и резистентности [1–4]. В последние годы в нашей стране селекционные работы направлены на повышение уровня не только молочной продуктивности, но и устойчивости животных к различным заболеваниям. В связи с этим при селекционной работе необходимо учитывать генетическое происхождение животных. Особенно важным является изучение показателей резистентности у различных линий коров [5–12]. Поэтому детальное изучение коров различных линий быков позволит выявить наиболее резистентные линии крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на комплексе ООО «Защитное» Курской области. Объектом исследования были коровы симментальской породы, которые принадлежали к линиям быков Ромулус, Редад, Хаксл, Хониг. Животные выращивались в одинаковых условиях кормления и содержания. Уровень кормления соответствовал их физиологическим потребностям. Продуктивность коров была практически одинаковой и находилась на уровне 10600–11000 молока за лактацию. Кровь до утреннего кормления 1 раз в месяц отбирали у 10 животных от каждой линии коров. В крови определяли бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови на культуре кишечной палочки (*E. Coli*), по методике УНИИЭВ [13], а также общие иммуноглобулины цинк-сульфатным методом [14]. Обработку полученных результатов исследований проводили с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК).

Из данных, приведенных на рисунке 1, видно, что на первом месяце лактации бактерицидная активность сыворотки крови у коров, принадлежащих к разным линиям, была примерно на одинаковом уровне и находилась на уровне между $66,8 \pm 3,18$ % и $67,2 \pm 2,71$ %. На втором месяце лактации этот показатель у всех линий коров незначительно увеличился и находился между $68,2 \pm 3,08$ % и $70,2 \pm 3,99$ %. На пике лактации, который соответствовал третьему месяцу, наоборот, наблюдалось снижение бактерицидной активности сыворотки крови. По отношению ко второму месяцу лактации это снижение у коров линии быка Ромулус произошло на 8,4 %, у линии быка Редад – на 21,9 %, у линии быка Хаксл – на 23,9 %, у линии быка Хониг – на 18,6 %. В дальнейшем по ходу лактации произошло увеличение бактерицидной активности сыворотки крови. Это увеличение произошло у всех подопытных коров независимо от их линейной принадлежности. Сравнивая показатели бактерицидной активности сыворотки крови между подопытными группами коров, следует отметить, что до 8 месяца лактации этот показатель был незначительно выше у коров, принадлежащих к линии быка Ромулус, а на третьем месяце лактации у этой линии коров отмечены статистически достоверные различия по отношению к данным коров, принадлежащих к линиям быков Редад и Хаксл ($P < 0,05$). На четвертом месяце лактации такие различия были отмечены и у коров линии быка Хониг ($P < 0,05$). Между бактерицидной активностью сыворотки крови и среднесуточными удоями у всех линий коров установлена отрицательная корреляция, которая составила у коров линии быка Ромулус $r = -0,77$, у коров линии быка Редад $r = -0,81$, у коров линии быка Хаксл $r = -0,83$, у коров линии быка Хониг $r = -0,80$.

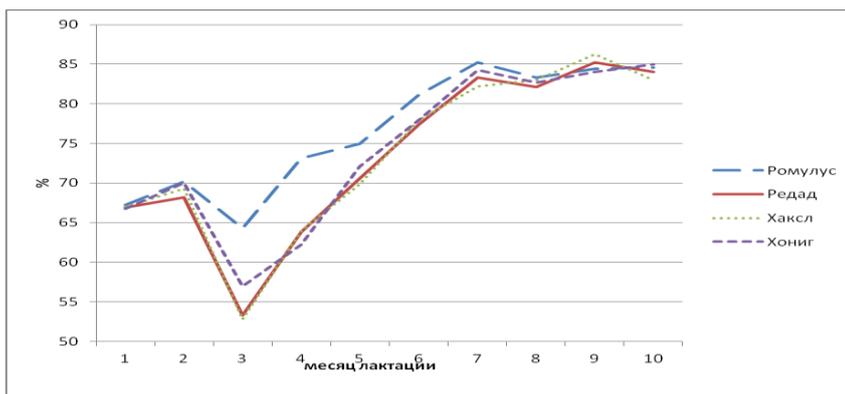


Рис. 1. Динамика бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) у коров, принадлежащих к разным линиям быков

Лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК). Лизоцимная активность сыворотки крови на первом месяце лактации у подопытных коров была примерно на одинаковом уровне и составляла у коров линии быка Ромулус $15,5 \pm 1,43$ %, у линии быка Редад $14,8 \pm 1,92$ %, у линии быка Хаксл $14,6 \pm 1,37$ %, у линии быка Хониг $14,9 \pm 1,44$ %.

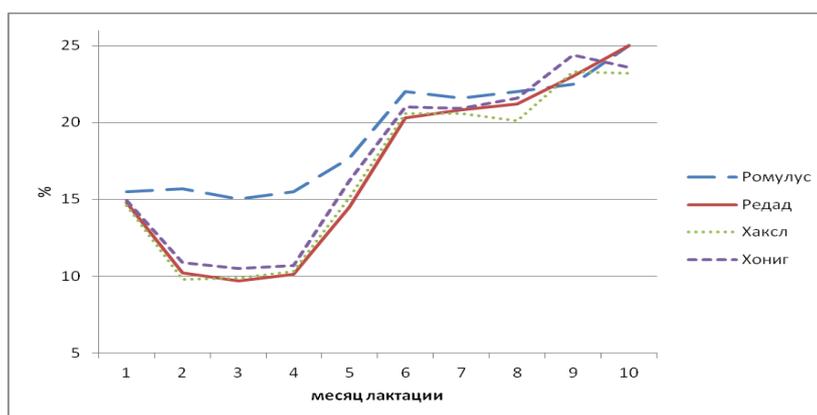


Рис. 2. Динамика лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК) у коров, принадлежащих к разным линиям быков

К третьему месяцу лактации, который соответствовал пику лактации, произошло снижение этого показателя. Так, у коров линии быка Ромулус это снижение было незначительным и составило в этот период лактации $15,0 \pm 1,0$ %. У других линий коров это снижение было более значительным. Так, по отношению к первому месяцу лактации у коров линии быка Редад это снижение произошло на $65,5$ %, у линии быка Хаксл на $67,8$ % ($P < 0,05$), у линии быка Хониг на $70,5$ % ($P < 0,05$). В дальнейшем по ходу лактации наблюдалось увеличение лизоцимной активности сыворотки крови. Следует отметить, что более высокие значения этого

показателя до 8 месяца лактации были также отмечены у коров, принадлежащих к линии быка Ромулус. Так, на восьмом месяце лактации у коров линии быка Ромулус лизоцимная активность сыворотки крови составила $22,0 \pm 2,16$ %, у коров линии быка Редад $21,2 \pm 1,7$ %, у коров линии быка Хаксл $20,1 \pm 1,45$ %, у коров линии быка Хониг $21,6 \pm 1,57$ %. На девятом месяце лактации более высокие показатели лизоцимной активности сыворотки крови были у коров линии быка Хониг и составили $24,4 \pm 1,59$ %, а на десятом месяце этот показатель был выше у коров линии быков Ромулус и Редад и составлял 25 %. Между уровнем лизоцимной активности сыворотки крови и среднесуточными удоями коров установлена отрицательная корреляция. Так, у коров линии быка Ромулус она составила $r = -0,87$, у коров линии быка Редад $r = -0,89$, у коров линии быка Хаксл $r = -0,88$, у коров линии быка Хониг $r = -0,86$.

Таким образом, проведенные исследования БАСК и ЛАСК у лактирующих коров разных линий свидетельствуют о том, что более высокие значения этих показателей были отмечены у коров, принадлежащих к линии быков Ромулус. Между уровнем молочной продуктивности коров и показателями БАСК и ЛАСК установлена отрицательная коррелятивная связь.

Динамика общих иммуноглобулинов в крови лактирующих коров разных линий

При исследовании общих иммуноглобулинов в крови подопытных коров, принадлежащих к линиям быков Ромулус, Редад, Хаксл, Хониг, было установлено, что концентрация этого показателя независимо от генетического происхождения коров в первом триместре лактации была примерно одинаковой. Выраженных различий между подопытными линиями коров в этот период лактации не установлено. На первом месяце лактации уровень общих иммуноглобулинов в крови коров линии быка Ромулус составил $13,5 \pm 0,52$ мг/мл, у линии быка Редад $12,7 \pm 0,44$ мг/мл, у линии быка Хаксл $12,0 \pm 0,29$ мг/мл, у линии быка Хониг $12,2 \pm 0,54$ мг/мл.

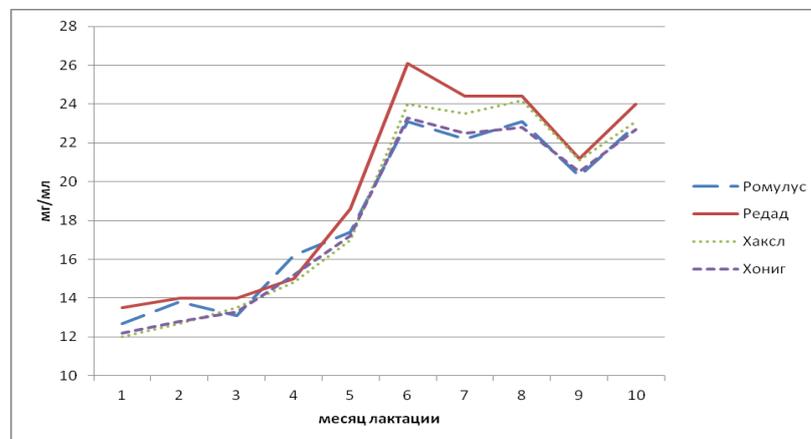


Рис. 3. Динамика общих иммуноглобулинов в крови лактирующих коров разных линий

На пике лактации эти значения незначительно у всех подопытных коров увеличились: у коров линии быка Ромулус до уровня $14,0 \pm 0,43$ мг/мл, у линии быка Редад до $13,1 \pm 0,47$ мг/мл, у линии быка Хаксл до $13,5 \pm 0,5$ мг/мл, у линии быка Хониг до $13,3 \pm 0,35$ мг/мл. В дальнейшем по ходу лактации концентрация общих иммуноглобулинов в крови подопытных линий коров постепенно увеличивалась. У коров линии быка Ромулус наибольшие значения этого показателя были на 6 месяце лактации и составили $26,1 \pm 0,79$ мг/мл. У других подопытных коров наибольшие значения общих иммуноглобулинов в крови были также на 6 месяце лактации. Так, у коров линии быка Редад этот показатель составил $23,1 \pm 0,78$ мг/мл. У коров линии быка Хаксл максимальные значения отмечены на 8 месяце лактации и составили $24,2 \pm 0,80$ мг/мл, у коров линии быка Хониг на 6 месяце лактации уровень общих иммуноглобулинов находился на уровне $23,3 \pm 0,53$ мг/мл. Между уровнем молочной продуктивности коров и концентрацией общих иммуноглобулинов в их крови установлена отрицательная корреляция. У коров линии быка Ромулус она составила $r = -0,63$, у линии быка Редад – $r = -0,68$, у линии быка Хаксл – $r = -0,69$, у линии быка Хониг – $r = -0,67$.

Сравнивая полученные результаты, можно заметить, что в отдельные месяцы лактации концентрация общих иммуноглобулинов в крови была выше у коров, принадлежащих к линии Ромулус. На 6 месяце лактации эти различия по отношению к сравниваемым линиям коров отмечены как статистически достоверные ($P < 0,05$). На 7 месяце лактации эти различия сохранились у коров, принадлежащих к линиям быка Редад и Хаксл ($P < 0,05$).

Таким образом, результаты исследований общих иммуноглобулинов в крови лактирующих коров, принадлежащих к разным линиям, свидетельствует о том, что более высокие значения этого показателя были у коров линии быка Ромулус по сравнению с линиями быка Редад, Хаксл и Хониг. Между концентрацией общих иммуноглобулинов в крови коров и среднесуточными удоями установлена отрицательная коррелятивная связь, которая была на уровне между $r = -0,63$ и $r = -0,69$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что более высокий уровень бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, а также уровень общих иммуноглобулинов в крови наблюдался у коров линии быка Ромулус по отношению к сравниваемым линиям быков Редад, Хаксл, Хониг. Это свидетельствует о более высокой резистентности животных, принадлежащих к линии быка Ромулус.

Между бактерицидной активностью сыворотки крови и среднесуточными удоями у всех линий коров установлена отрицательная корреляция, которая составила у коров линии Ромулус $r = -0,77$, у коров линии Редад $r = -0,81$, у коров линии Хаксл $r = -0,83$, у коров линии Хониг $r = -0,80$.

Между уровнем лизоцимной активности сыворотки крови и среднесуточными удоями коров установлена отрицательная корреляция. Так, у коров линии Ромулус

она составила $r = -0,87$, у коров линии Редад $r = -0,89$, у коров линии Хаксл $r = -0,88$, у коров линии Хониг $r = -0,86$.

Между уровнем молочной продуктивности коров и концентрацией общих иммуноглобулинов в их крови установлена отрицательная корреляция. У коров линии Ромулус она составила $r = -0,63$, у линии Редад $r = -0,68$, у линии Хаксл $r = -0,69$, у линии Хониг $r = -0,67$. Отрицательную коррелятивную связь между показателями общей резистентности животных и молочной продуктивностью отмечают и другие исследователи. Это, видимо, связано с тем, что в период высоких удоев организм животных испытывает высокую напряженность и с влиянием питательных веществ на синтез молочных компонентов молока, в том числе и белковых, которые формируют общую резистентность животных [15].

В результате проведенных исследований для преимущественного использования в молочном стаде коров можно рекомендовать линию коров быка Ромулус, так как она имеет более высокие показатели БАСК, ЛАСК и общих иммуноглобулинов в крови, а значит обладает более высокой резистентностью по отношению к сравниваемым группам.

Список литературы

1. Емельянов А. С. О наследуемости свойств резистентности или противостояния к заболеваниям у сельскохозяйственных животных / А. С. Емельянов, Г. К. Сметанина, Н. Н. Кулакова // Генетика и новые методы селекции молочных пород скота. – М., 1970. – С. 34–39.
2. Еременко В. И. Метаболический статус, неспецифическая резистентность и их коррекция у крупного рогатого скота. / В. И. Еременко, О. Б. Сеин – Курск: Деловая полиграфия, 2011. – 194 с.
3. Красота В. Ф. Пути повышения естественной резистентности сельскохозяйственных животных / В. Ф. Красота, Е. К. Меркурьева, Г. И. Шангин-Березовский // Генетическая устойчивость сельскохозяйственных животных к заболеваниям. – М., 1983. – Вып. 3. – С. 15–16.
4. Лебенгарц Я. З. Продуктивность, метаболизм, иммунологическая реактивность крупного рогатого скота в зависимости от факторов кормления / Я. З. Лебенгарц // С.-х. биология. – 1992. – № 6. – С. 96–106.
5. Бороздин Э. Устойчивость коров к маститам / Э. Бороздин, К. Клееберг, А. Хрунова // Животноводство. – 1981. – № 1. – С. 37–38.
6. Романенко Л. В. Мониторинг выращивания племенных телок черно-пестрой породы голштинского происхождения в племенных хозяйствах / Л. В. Романенко, В. И. Волгин, З. Л. Федорова // Зоотехния. – 2011. – № 4. – С. 9–12.
7. Сельцов В. И. Продуктивные качества и экстерьерные особенности дочерей быков симментальской породы отечественного и австрийского происхождения / В. И. Сельцов, А. А. Сермягин // Зоотехния. – 2010. – № 4. – С. 2–4.
8. Вострухина Ю. Ю. Динамика биохимических показателей крови у бычков разных линий в онтогенезе / Ю. Ю. Вострухина, В. И. Еременко // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 2. – С. 62–63.
9. Гайдукова Е. В. Особенности развития и молочной продуктивности животных холмогорской породы разной линейной принадлежности / Е. В. Гайдукова // Зоотехния. – 2011. – № 8. – С. 4–5.
10. Дмитриев В. Б. Гормональный фактор в микроэволюционном процессе и селекции животных / В. Б. Дмитриев // С.-х. биология. – 1998. – № 2. – С. 18–30.
11. Жебровский Л. С. Прогнозирование молочной продуктивности крупного рогатого скота / Л. С. Жебровский, А. Д. Комисаренко, В. Е. Митютько. – Л., 1980. – С. 141.
12. Радченков В. П. Определение гормонов в крови крупного рогатого скота, свиней и их гормональный статус / В. П. Радченков, В. С. Аверин, Е. В. Бутров и др. // Методические указания. – Боровск, 1985. – 75 с.

13. Чумаченко В. Е. Определение естественной резистентности и обмена веществ сельскохозяйственных животных / В. Е. Чумаченко, А. М. Высоцкий, Н. А. Сердюк, В. В. Чумаченко – Киев: Урожай, 1990. – 134 с.
14. Кондрахин И. П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И. П. Кондрахин, Н. В. Курилов, А. Г. Малахов – Москва: Агропромиздат, 1985. – 211 с.
15. Лебенгардц Я. З. Взаимосвязь генотипа и адаптационных функций организма сельскохозяйственных животных / Я. З. Лебенгардц // С.-х. биология. – 1987. – № 2. – С. 97–103.

INDICATORS OF NATURAL RESISTANCE OF COWS BELONGING TO DIFFERENT LINES OF THE BULLS

Eremenko V. I., Stasenkova Yu.

*Kursk state agricultural Academy named after I. I. Ivanov, Kursk, Russia
E-mail: vic.eriomenko@yandex.ru*

It is practically valuable to study the indicators of natural resistance in cows belonging to different lines of bulls. This will help to identify animals belonging to a certain line of bull with the higher levels of natural resistance such as bacteria (BASK), lysozyme (FOREPLAY) activity of blood serum and total immunoglobulin. In this regard, the task was to determine the most resistant line of cows belonging to the lines of bulls Romulus, Redad, Huxl and Honig. Studies were conducted on cows of the 2nd lactation of the Simmental breed, which belonged to different lines of 10 heads in each group. Bactericidal, lysozyme activity of blood serum and General immunoglobulins were determined in the blood. The productivity of animals was the same level 10600–11000 kg per lactation. As a result of the conducted researches it was established that between the level of dairy productivity of cows during lactation and the studied indicators the negative correlation which made from $r=-0.63-0.89$ is established. Higher rates BASK, CARESSES and total immunoglobulins were cows line of bull Romulus compared to lines bulls Read, Hack and Honig. That allows to recommend the line of cows of a bull of Romulus for primary use in selection work of a herd of cows.

Keywords: bactericidal and lysozyme activity of blood serum total immunoglobulins, line of cows the bull Romulus, Read, Hack and Honig.

References

1. Emelyanov A. S., Smetanina G. K., Kulakova N. H. About the inheritance of resistance properties or opposition to diseases in farm animals, *Genetics and new methods of breeding dairy cattle*, 34 (M., 1970).
2. Eremenko V. I., Sein O. B. *Metabolic status, non-specific resistance and their correction in cattle*, 194 p. (Kursk: Publishing House "business printing", 2011).
3. Beauty V. F., Merkuryeva E. K., Shangin-Berezovsky G. I. Ways of increase of natural resistance of farm animals, *Genetic resistance of farm animals to diseases*, 3, 15 (M., 1983).
4. Lebensart Y. Z. Productivity, metabolism, immunological reactivity of cattle, depending on factors feeding, *Agricultural biology*, 6, 96 (1992).
5. Borozdin E., Kleeberg K., Khrunova A. Resistance of cows to mastitis, *Livestock*, 1, 37 (1981).
6. Romanenko L. V., Volgin V. I., Fedorova Z. L. Monitoring of cultivation of breeding heifers of black-and-white breed of Holstein origin in breeding farms, *Zootechnics*, 4, 9 (2011).

7. Seltsov V. I., Sermyagin A. A. Productive qualities and exterior features of daughters of bulls of Simmental breed of domestic and Austrian origin, *Zootechnics*, **4**, 2 (2010).
8. Vostruhina Y. Y., Yeremenko V. I. Dynamics of biochemical indicators of blood in calves of different lines in ontogenesis, *Vestnik of Kursk state agricultural Academy*, **2**, 62 (2011).
9. Gaydukova E. V. Features of development and dairy productivity of animals of holmogorsky breed of different linear accessory, *Zootechnics*, **8**, 4 (2011).
10. Dmitriev V. B. Hormonal factors in microevolutionary process and breeding of animals, *Agricultural biology*, **2**, 18 (1998).
11. Zhebrovsky L. S., Komisarenko D. A., Mitotic V. E. *Prediction of milk productivity of cattle*, 141 (L., 1980).
12. Radchenko V. P., Averin S. V., Burrow E. V. et al. Detection of hormones in blood of cattle, pigs and their hormonal status, 75 p. (HOWTO. - Borovsk, 1985).
13. Chumachenko V. E., Vysotsky A. M., Serdyuk N. A., Chumachenko V. V. Determination of natural resistance and metabolism of farm animals, 134 (Kiev, 1990).
14. Kondrakhin I. P., Kurilov N. Oh., Malakhov A. G. *Clinical laboratory diagnostics in veterinary medicine*, 211 p. (Agropromizdat Moscow, 1985).
15. Lebensart Me. Z. The Relationship between genotype and adaptive functions of the organism of farm animals, *Agricultural biology*, **2**, 97 (1987).

УДК 633.81:57.085.2

**ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ
КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO* СОРТОВ МЯТЫ
АЖУРНАЯ И БЕРГАМОТНАЯ**

Загорская М. С., Егорова Н. А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: zagorskayamargo@gmail.com*

Целью исследования было изучение влияния состава питательной среды на морфометрические показатели эксплантов на 2-ом этапе клонального микроразмножения сортов Ажурная и Бергамотная. Испытано 14 модификаций питательной среды МС с различным содержанием регуляторов роста и сахарозы. Установлено, что на изученные показатели развития эксплантов влияли состав питательной среды и генотип. Наибольшее число побегов на эксплант у сорта Ажурная (3,4 шт.) было на среде МС с добавлением 1,0 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК и 1 % сахарозы, тогда как у 'Бергамотной' (3,8 шт.) – на среде МС с 1,0 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГКз и 2 % сахарозы. Длина побегов и число узлов на них у 'Ажурной' были максимальными на безгормональной среде, а у 'Бергамотной' – на среде с 0,1 мг/л ТДЗ, 0,5 мг/л ИУК и 2 % сахарозы. Коэффициент размножения при этом достигал максимального значения у 'Ажурной' (12,6) на среде с 1,0 мг/л кинетина, 0,5 мг/л ИУК и 2 % сахарозы, а у 'Бергамотной' (9,8) – при добавлении 1,0 мг/л зеатина, 0,5 мг/л ИУК и 2 % сахарозы. На этих средах наблюдали ризогенез с частотой от 80 до 100 %, что позволяет исключить этап укоренения *in vitro* у изученных сортов мяты.

Ключевые слова: *Mentha spp.*, *in vitro*, клональное микроразмножение, питательная среда, регуляторы роста растений.

ВВЕДЕНИЕ

Род *Mentha* насчитывает более 600 видов, некоторые из них возделываются во многих странах мира, прежде всего как лекарственные и эфиромасличные растения. Популярность мяты в значительной степени связана с содержанием в эфирном масле ментола. Как его природный источник мята используется человеком довольно давно [1]. Спектр применения растительного сырья и эфирного масла мяты очень широк: это косметическая, пищевая промышленность, фармакология, а также медицина. Препараты из мяты оказывают антисептическое, седативное, умеренное спазмолитическое, желчегонное, антиэметическое действие.

За сравнительно короткий период времени формирования биотехнологии растений как самостоятельного направления науки достигнуты результаты, имеющие большое фундаментальное и прикладное значение. Наибольшее развитие получили технологии клонального микроразмножения и оздоровления растений. Возрастающий спрос на качественное эфирное масло мяты диктует необходимость разработки эффективных биотехнологических способов клонального

микроразмножения перспективных сортов. В НИИ сельского хозяйства Крыма в течение многих лет проводится работа по созданию сортов мяты с различным компонентным составом эфирного масла. Недавно получены и введены в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации высокоментольный сорт Ажурная и нементольный сорт Бергамотная [2]. Для них перспективна разработка приемов клонального микроразмножения *in vitro* с целью ускоренного размножения и получения качественного посадочного материала, а также депонирования *in vitro*.

К настоящему времени проведено достаточно много биотехнологических исследований разных видов мяты как отечественными, так и зарубежными учеными. Эти исследования касались вопросов индукции каллусо- и морфогенеза, клонального микроразмножения, депонирования *in vitro* и др. Так, были изучены особенности каллусообразования в культуре листовых эксплантов мяты перечной на питательных средах с различным содержанием селена [3]. Известно о разработке приемов холодого хранения при низких положительных температурах у четырех генотипов мяты из Южной Азии и получения медленно растущей культуры без полной остановки роста [4]. Проводятся также исследования по клональному микроразмножению. В качестве объектов для биотехнологических экспериментов использовались различные виды мяты: *Mentha piperita* [5–8], *M. viridis* [9], *M. canadensis* [10] и другие. В частности, проводились работы по изучению влияния типа экспланта и питательной среды на микроразмножение *in vitro* [7, 9, 11]. Имеются данные о разработке методики клонального размножения для некоторых эфиромасличных сортов мяты (Симферопольская 200, Заграва, Украинская перечная, Двухукосная и Прилукская 6) [12]. Известно, что генотип оказывает большое влияние на эффективность морфогенетических процессов *in vitro*. Исследований по изучению различных аспектов микроразмножения для новых эфиромасличных сортов ранее не проводилось. Поэтому целью нашей работы была оптимизация состава питательной среды для 2-го этапа клонального микроразмножения *in vitro* для новых перспективных сортов мяты Ажурная и Бергамотная.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили ткани и органы мяты сортов Ажурная и Бергамотная. Сорт Ажурная – высокоментольный сорт (67,1–68,5 % ментола в эфирном масле), получен путем свободного переопыления полиплоида *Mentha canadensis* L. с коллекционными образцами дикорастущих видов. Нементольный сорт Бергамотная (основные компоненты эфирного масла – линалоол и линалил-ацетат) получен путем трехвидовой гибридизации (*M. citrata* Ehrh. × *M. longifolia* L.) × *M. spicata* L. [13]. Донорные растения выращивали в условиях закрытого грунта. Подготовку материалов и оборудования для работы в асептических условиях, питательных сред и анализ ростовых процессов проводили согласно изложенным в литературе рекомендациям [14, 15]. Экспланты культивировали на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) [16] с добавлением БАП,

ИУК, зеатина, кинетина (кин), тидиазурона (ТДЗ), гибберелловой кислоты (ГК₃) и 1–3 % сахарозы (сах.).

В культуру *in vitro* вводили меристемы с двумя листовыми примордиями (0,5–0,7 мм), выделенные из пазушных почек растений. На 2-ом этапе микроразмножения в качестве эксплантов использовали сегменты стебля с одним узлом, вычлененные из побегов, развившихся из меристем. Микрочеренки культивировали в пробирках (с 10 мл питательной среды) в культуральной комнате при +26 °С, влажности 70 % и освещенности 2–3 клк с 16-часовым фотопериодом.

В процессе культивирования определяли различные морфобиологические показатели: число и длину побегов, количество листьев (узлов) на побеге, частоту ризогенеза, а также оценивали морфологию побегов. Коэффициент размножения (К. Р.) рассчитывали как количество микрочеренков, которое можно получить за одно субкультивирование, для этого среднее количество образовавшихся побегов умножали на среднее число узлов на побеге. Микрочеренкование побегов осуществляли каждые 40–45 дней. Все эксперименты воспроизведены не менее двух раз. Данные обработаны статистически, согласно общепринятым методам статистической обработки с использованием пакета программ Microsoft Office [Excel 2007].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс клонального микроразмножения состоит из нескольких этапов: введение в асептическую культуру, собственно микроразмножение, укоренение *in vitro*, адаптация к условиям *in vivo* [17]. При введении в культуру *in vitro* меристем мяты у изученных сортов наблюдали 100 % приживаемость эксплантов. Для культивирования использовали питательную среду МС482 с добавлением БАП (1,0 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л), которую выделили на основании наших предварительных исследований [18]. После недели культивирования на этой среде отмечено развитие из меристем 1–3 побегов. В дальнейшем для 2 этапа (собственно микроразмножения) в качестве эксплантов использовали сегменты стебля с 1 узлом, которые получали при микрочеренковании основного и дополнительных побегов *in vitro*.

С целью совершенствования методики микроразмножения и оптимизации состава питательной среды было изучено влияние различных модификаций питательной среды Мурасиге и Скуга на развитие меристемных культур сортов мяты Ажурная и Бергамотная на 2-м этапе размножения *in vitro*. При этом были испытаны 14 модификаций сред МС с различным содержанием регуляторов роста (БАП, ИУК, ТДЗ, ГК₃, кинетина, зеатина), сахарозы (1–3 %), макро- и микроэлементов, инозита.

Для второго этапа клонального микроразмножения сортов Ажурная и Бергамотная было характерно активное развитие основного и адвентивных побегов (1,5–3,8 шт. на эксплант) длиной от 28,9 до 81,3 мм. Также на некоторых средах развивались корни (рис. 1.). Изредка наблюдали образование небольшого каллуса у основания микропобега, снижение тургора и появление антоциановой окраски побегов.

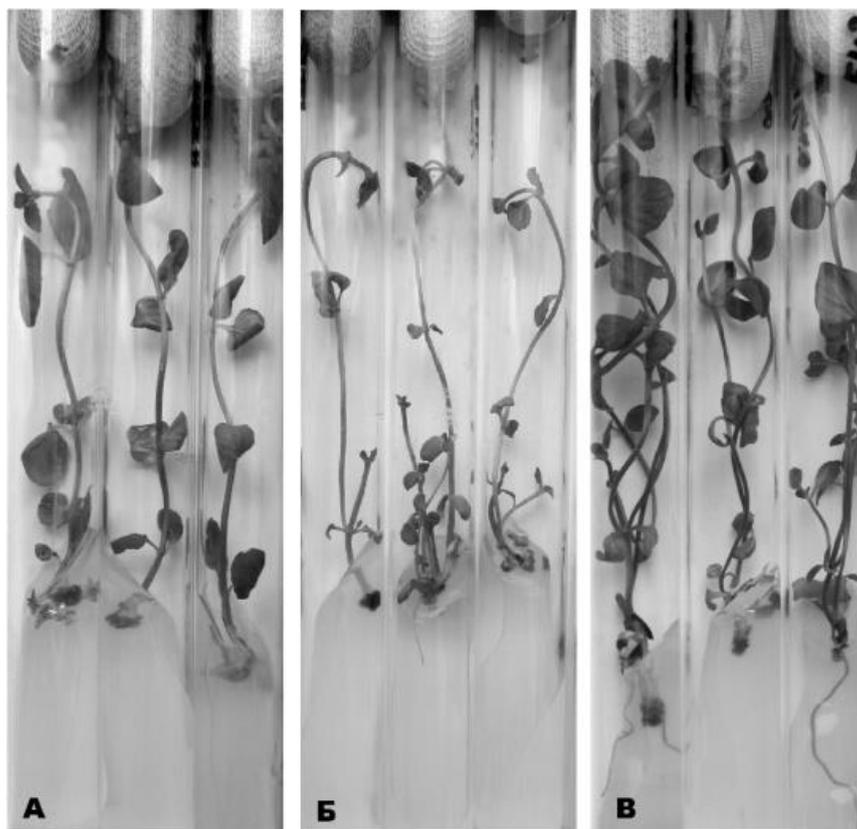


Рис. 1. Развитие меристемных культур мяты сорта Ажурная на 2-м этапе микроразмножения на различных модификациях питательной среды МС (А – МС482, Б – МСБ, В – МС542)

При помещении микрочеренков на модификации среды МС была установлена различная реакция изученных сортов. На безгормональной среде у ‘Ажурной’ отмечены самые длинные побеги (75,6 мм) и, соответственно, наибольшее количество узлов (табл. 1). Однако коэффициент размножения на этой среде (рис. 2) был не очень высоким, так как развивалось небольшое число побегов. У ‘Бергамотной’ на безгормональной среде количество побегов также было низким, но побеги были длинными (61,3 мм) с большим числом узлов. В связи с этим коэффициент размножения также был минимальным (5,2). Противоположные данные получили иранские ученые, которые предлагают использовать именно безгормональную среду для микроразмножения в связи с максимальными морфологическими показателями (длина побега 32 мм, число узлов 8 шт./побег) [7].

Мы также испытали рекомендованную для размножения некоторых эфиромасличных сортов мяты питательную среду с БАП (1,0 мг/л), ИУК (0,5 мг/л), кинетином (0,1 мг/л) и 3 % сахарозы (МСБ) [12]. Однако культивирование на этой среде не способствовало повышению коэффициента размножения для сорта

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ...

Ажурная, а, наоборот, привело к его достоверному снижению по сравнению с МСб/г. В то же время у сорта Бергамотная наблюдалось достоверное увеличение К.Р. и остальных морфометрических показателей (табл. 1,2, рис. 2).

Таблица 1
Влияние состава питательной среды на количество и длину микропобегов
на 2-ом этапе микроразмножения сортов мяты

№ питательной среды	Добавки в составе питательной среды МС (мг/л)	Кол-во побегов, шт./эксплант		Длина побега, мм	
		‘Ажурная’	‘Бергамотная’	‘Ажурная’	‘Бергамотная’
МСб/г	сах. 2 %	1,6±0,1	1,5±0,1	75,6±5,3	61,3±6,2
МСБ	БАП (1,0) + ИУК (0,5) + кин (0,1), сах. 3 %	2,4±0,2	2,3±0,2	45,7±4,7	63,4±5,9
МС482	БАП (1,0) + ИУК (0,5), сах. 2 %	1,9±0,1	2,0±0,1	49,6±3,1	57,8±3,5
МС482а	БАП (1,0) + ИУК (0,5), сах. 1 %	3,4±0,4	2,6±0,3	28,9±2,6	42,1±4,3
МС482б	БАП (1,0) + ИУК (0,5), сах. 2 %, инозит (50,0)	2,6±0,5	2,2±0,2	49±5,2	63,9±5,2
МС487	БАП (1,0) + ГК ₃ (0,5), сах. 2 %	2,0±0,1	3,8±0,3	52,4±5,0	39,6±2,8
МС540	кин (1,0) + ИУК (0,5), сах. 2 %	3,3±0,5	1,8±0,1	55,0±4,9	67,1±6,7
МС541	ТДЗ (1,0) + ИУК (0,5), сах. 2 %	3,2±0,4	2,2±0,1	46,5±3,2	64,6±4,4
МС542	зеатин (1,0) + ИУК (0,5), сах. 2 %	3,2±0,5	2,5±0,2	54,5±4,8	66,3±5,5
МС543	ТДЗ (0,1) + ИУК (0,5), сах. 2 %	2,7±0,2	1,6±0,0	59,0±3,8	81,3±4,5
МС3	ТДЗ (0,5) + ИУК (0,5), сах. 2 %	2,3±0,2	1,5±0,1	51,5±5,1	71,8±7,0
МС4	ТДЗ (0,5), сах. 2 %	2,4±0,2	2,3±0,2	44,5±5,0	50,5±5,7
МС5	½ МС + ТДЗ (0,5) + ИУК (0,5), сах. 2 %	2,5±0,3	1,7±0,2	34,9±4,5	62,6±7,6
МС6	ТДЗ (0,5) + ГК ₃ (0,5), сах. 2 %	2,8±0,2	2,1±0,2	57,0±4,3	71,6±5,1
МС7	ТДЗ (0,5) + ИУК (0,5), сах. 1 %	2,9±0,2	1,8±0,1	43,8±4,1	55,9±6,0

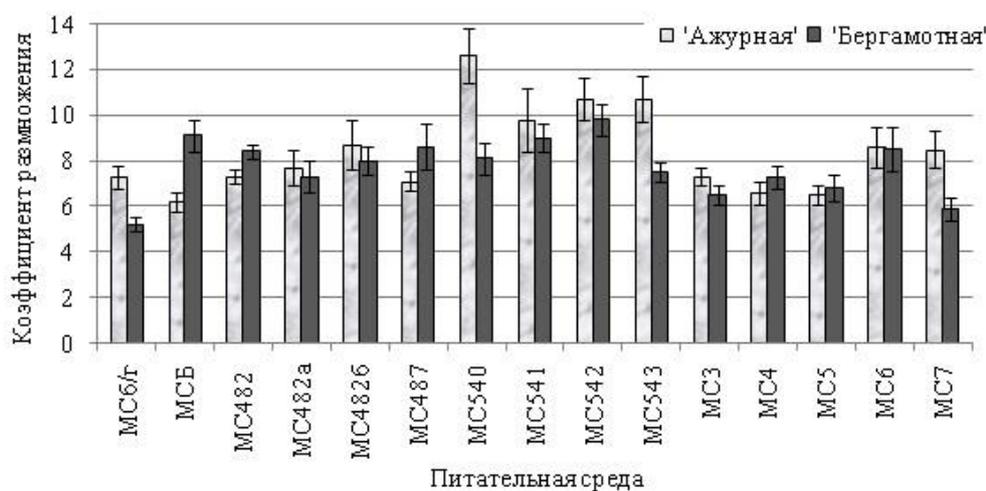


Рис. 2. Влияние состава питательной среды на коэффициент размножения двух сортов мяты на 2-ом этапе клонального микроразмножения *in vitro*. Состав питательных сред см. в табл. 1.

На среде MC482 (ранее использованной нами для микроразмножения некоторых сортов мяты) у сорта Ажурная наблюдали рост количества побегов (до 1,9 шт./эксплант), однако снижение их длины и числа узлов. Это не повлияло на коэффициент размножения по сравнению с безгормональной средой. У 'Бергамотной' длина побегов и количество узлов оказались высокими, и К. Р. был достоверно выше (8,4), чем на среде МСб/г (5,2). Добавление в среду гибберелловой кислоты (МС487) вместо ИУК вызвало рост числа побегов: у 'Бергамотной' этот показатель достиг максимального значения (3,8). Это способствовало достоверному увеличению К. Р. у данного сорта по сравнению с МСб/г, однако К. Р. был примерно на одном уровне со средами, используемыми для других эфиромасличных сортов мяты (МСБ, МС482). При этом у 'Ажурной' выявлена тенденция к снижению К. Р. и остальных параметров по сравнению с этими средами. Показано, что у обоих сортов на данной среде отсутствовала способность к ризогенезу (табл. 2).

Добавление в питательную среду кинетина вместо БАП (МС540–МС482) способствовало увеличению количества побегов у сорта Ажурная, что обеспечило максимальный К. Р. – 12,6. У сорта Бергамотная такое изменение состава среды достоверно не повлияло на изученные показатели. Также на среде МС540 выявлена высокая частота ризогенеза у обоих сортов, которая достигла 93,3 % (см. табл. 2).

Добавление в питательную среду зеатина (1,0 мг/л) вместо БАП (МС542–МС482) способствовало значительному увеличению количества побегов и достоверному повышению К. Р. у обоих сортов. При этом у 'Бергамотной' на среде МС542 был максимальный К. Р. (9,8). Частота корнеобразования на этой среде составила от 80 до 100 %. (табл. 2.). С целью упрощения состава среды была проанализирована возможность снижения содержания углеводов в питательной

среде МС482. Установлено, что уменьшение концентрации сахарозы до 1 % (МС482а – МС482) способствовало увеличению количества побегов, однако снижению их длины и числа узлов. Поэтому К. Р. достоверно не изменился. При этом у обоих сортов наблюдали увядание и снижение тургора многих побегов. Уменьшение вдвое концентрации инозита в питательной среде (МС482б – МС482) привело к повышению количества побегов у обоих сортов. Длина побегов и количество узлов на них достоверно не изменились. Коэффициент размножения также достоверно не изменился, хотя у сорта Ажурная наблюдалась тенденция к его увеличению.

Таблица 2

Влияние состава питательной среды на число узлов на побеге и частоту корнеобразования на втором этапе микроразмножения двух сортов мяты

№ питательной среды*	Количество узлов, шт./побег		Частота корнеобразования, %	
	‘Ажурная’	‘Бергамотная’	‘Ажурная’	‘Бергамотная’
МСб/Г	4,4±0,3	3,3±0,3	100,0	100,0
МСБ	2,6±0,2	4,0±0,4	35,0±3,1	10,0±0,9
МС482	3,6±0,2	4,0±0,2	37,9±3,3	42,1±3,8
МС482а	2,3±0,2	2,9±0,3	15,8±1,8	15,0±1,2
МС482б	3,4±0,3	3,7±0,4	16,7±1,4	31,6±2,9
МС487	3,6±0,3	2,3±0,1	0,0	0,0
МС540	3,8±0,3	4,5±0,4	93,3±8,8	93,3±9,1
МС541	3,0±0,1	4,0±0,2	20,5±2,2	28,5±2,0
МС542	3,3±0,3	3,8±0,3	80,0±7,7	100,0
МС543	3,9±0,2	4,6±0,2	79,4±6,5	91,6±9,1
МС3	3,0±0,2	4,1±0,3	36,8±3,4	80,0±7,5
МС4	2,6±0,2	3,1±0,2	31,5±2,9	45,0±4,3
МС5	2,5±0,2	3,9±0,4	70,0±6,9	73,6±7,2
МС6	3,0±0,1	3,9±0,2	5,5±0,9	0,0
МС7	2,8±0,1	3,3±0,2	20,0±1,5	40,0±3,6

* состав питательных сред см. табл.1.

В последнее время при оптимизации питательных сред для индукции процесса морфогенеза у многих видов растений используют высокоактивный цитокинин – тидиазурон [19]. Мы также испытали его влияние на развитие эксплантов мяты. Сравнение действия разных цитокининов (введенных в питательные среды совместно с ИУК) при их одинаковой концентрации (среды МС482, МС540, МС541, МС542) не выявило существенного преимущества ТДЗ. Так, количество побегов у сорта Ажурная на всех средах с ТДЗ (МС541, МС543, МС3, МС4, МС5, МС6, МС7) было выше, чем на МС482, однако число узлов достоверно не отличалось. У ‘Бергамотной’ ТДЗ также достоверно не повлиял на количество побегов. Коэффициент размножения по сравнению со средой МС482 у ‘Бергамотной’ увеличился только на среде МС541 (1,0 мг/л ТДЗ), однако побеги были с пониженным тургором. Снижение концентрации тидиазурана до 0,1 мг/л (МС543–МС482) привело у ‘Ажурной’ к достоверному росту К. Р. до 10,7. Также были установлены высокая частота ризогенеза 79,4–91,6 % и хорошее развитие корневой системы у обоих сортов. Добавление в среду только ТДЗ (МС 4 – МС482) привело к снижению К. Р. у сортов. В работе индийских ученых на аналогичной среде выявили отсутствие развития побегов [5]. Снижение концентрации макро- и микроэлементов при введении в среду 0,5 мг/л ТДЗ (МС5–МС482) не только достоверно снизило К. Р., но и привело к появлению у ‘Ажурной’ единичных случаев витрификации, каллусообразования и слабого развития побегов. У Бергамотной такой реакции не наблюдали. Использование гибберелловой кислоты вместе с ТДЗ (МС6–МС482) вызвало увеличение К. Р. у сортов, но и индукцию каллуса у ‘Ажурной’ (11,1 %), а также появление слабых побегов и отсутствие ризогенеза у ‘Бергамотной’.

При снижении концентрации сахарозы до 1 % и замене БАП на тидиазурон в концентрации 0,5 мг/л (МС7 – МС482) коэффициент размножения у ‘Ажурной’ достоверно увеличился до 8,5, а у сорта Бергамотная был достоверно ниже контроля (5,9). Также было отмечено угнетение развития листьев у обоих сортов.

Таким образом, в ходе исследования при испытании 14 модификаций питательной среды МС было выявлено различное влияние одной и той же среды на коэффициент размножения у изученных сортов. Так, для сорта Ажурная на 2-ом этапе размножения среда МС540 была оптимальной, так как обеспечивала максимальный коэффициент размножения (12,6). Но для сорта Бергамотная лучшей средой оказалась МС542 (К.Р. 9,8). Однако при больших объемах работы удобно использовать универсальную питательную среду для размножения нескольких сортов. Такой средой, по-видимому, является МС542, содержащая зеатин и ИУК. У ‘Бергамотной’, как было указано выше, на этой среде был максимальный К. Р., а у ‘Ажурной’ отмечено недостоверное снижение этого показателя по сравнению с МС540. Установлено, что на среде МС540 у обоих сортов наблюдалось активное корнеобразование. Такой показатель, как частота ризогенеза, не является основным на 2-ом этапе микроразмножения. Однако определение питательной среды, которая обеспечивает одновременно максимальный К. Р. и высокую частоту формирования корней, позволит исключить этап укоренения *in vitro* и сразу переносить укорененные растения на адаптацию. С этой точки зрения питательная среда МС542

с добавлением 1,0 мг/л зеатина и 0,5 мг/л ИУК является наиболее подходящей для изученных сортов, так как ее использование не только обеспечивает высокий К. Р., но и может ускорить и удешевить процесс микроразмножения за счет одновременной стимуляции развития побегов и корней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучено влияние состава питательной среды на морфометрические показатели эксплантов на 2-ом этапе микроразмножения сортов мяты Ажурная и Бергамотная. При испытании 14 вариантов питательной среды МС выявлены различные морфогенетические реакции у изученных сортов. Наибольшее число побегов на эксплант у сорта Ажурная (3,4 шт.) было на среде МС с добавлением 1,0 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК и 1 % сахарозы, тогда как у 'Бергамотной' (3,8 шт.) – на среде МС с добавлением 1,0 мг/л БАП, 0,5 мг/л ГК₃ и 2 % сахарозы. Длина побегов и число узлов на них у 'Ажурной' были максимальными на безгормональной среде, а у 'Бергамотной' – на среде с 0,1 мг/л ТДЗ, 0,5 мг/л ИУК и 2 % сахарозы. Коэффициент размножения при этом достигал максимального значения у 'Ажурной' (12,6) на среде с 1,0 мг/л кинетина, 0,5 мг/л ИУК и 2 % сахарозы, а у 'Бергамотной' (9,8) – при добавлении в питательную среду 1,0 мг/л зеатина, 0,5 мг/л ИУК и 2 % сахарозы. На этой среде наблюдали ризогенез с частотой от 80 до 100 %, что позволяет исключить этап укоренения *in vitro* у изученных сортов. Питательная среда с добавлением 1,0 мг/л зеатина и 0,5 мг/л ИУК, по-видимому, является наиболее универсальной для изученных сортов, так как обеспечивает высокий коэффициент размножения и одновременно стимулирует развитие корней.

Список литературы

1. Паштецкий В. С. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра / В. С. Паштецкий, Н. В. Невкрытая, А. В. Мишнев, Л. Г. Назаренко. – Симферополь: АРИАЛ, 2017. – 243 с.
2. Шульга Е. Б. Новые сорта мяты для Крыма и других регионов юга России / Е. Б. Шульга // Таврический вестник аграрной науки. – 2017. – № 1 (9). – С. 28–36.
3. Бугара И. А. Получение каллусных культур *Mentha piperita* L. и их цитологическая характеристика при выращивании на питательных средах с различной концентрацией селена / И. А. Бугара, О. А. Мальцева // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Сер. Биология, химия. – 2011. – Т. 24 (63), № 4. – С. 17–23.
4. Islam T. In vitro conservation of four Mint (*Mentha* spp.) accession / T. Islam, S. Leunufna, D. P. Dembele [et al.] // Plant Tissue Cult. – 2003. – Vol. 13 (1). – P. 37–46.
5. Thul S. T. An efficient protocol for high-frequency direct multiple shoot regeneration from internodes of peppermint (*Mentha x piperita*) / S. T. Thul, A. K. Kukreja // Natural Product Communications. – 2010. – Vol. 5, No.12. – P. 1945–1946.
6. Laslo V. Use of nodal explants in «in vitro» micropropagation of *Mentha piperita* L. / V. Laslo, M. Zapartan, S. Vicas, E. Agud // Analele universitatii din Oradea, Fascicula protectia mediului. – 2011. – Vol. 16. – P. 247–251.
7. Bolouk S. G. In vitro culture of the peppermint plant (*Mentha piperita*) without the use of hormones / S. G. Bolouk, S. K. Kazemitabar, J. M. Sinaki // International journal of agriculture and crop sciences. – 2013. – Vol. 6 (18). – P. 1279–1283.
8. Mehta J. An efficient protocol for clonal micropropagation of *Mentha piperita* L. (Peppermint) / J. Mehta, R. Naruka, M. Sain [et al.] // Asian journal of plant science and research. – 2012. – Vol. 2 (4). – P. 518–523.

9. Raja H. D. In vitro propagation of *Mentha viridis* L. from nodal and shoot tip explants / H. D. Raja, D. I. Arockiasamy // *Plant tissue cult. & Biotech.* – 2008. – Vol. 18 (1). – P. 1–6.
10. Gomes H. T. Assessment of mint (*Mentha* spp) species for large-scale production of plantlets by micropropagation / H. T. Gomes, P. M. Bartos, A. E. Marins [et al.] // *Acta Scientiarum. Biological Sciences.* – 2015. – Vol. 37, № 4. – P. 405–410.
11. Егорова Н. А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: микрклональное размножение, синтез продуктов вторичного метаболизма *in vitro* / Н. А. Егорова // *Физиология растений и генетика.* – 2014. – Т. 46, № 3. – С. 187–201.
12. Бугара И. А. Индуцированный морфогенез и клональное микроразмножение перспективных сортов мяты: автореф. дис... канд. биол. наук: спец. 03.00.20 «Биотехнология» / И. А. Бугара – Ялта, 2006. – 21 с.
13. Шульга Е. Б. Новый высокопродуктивный сорт мяты Ажурная / Е. Б. Шульга // *Таврійський вісник аграрної науки.* – 2013. – № 1. – С. 56–60.
14. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Саранцкая, В. Е. Полищук. – Киев: Наук. думка, 1980. – 488 с.
15. Бугаенко Л. А. Размножение растений *in vitro* и получение безвирусного посадочного материала (Методические указания) / Л. А. Бугаенко, Н. А. Егорова. – Симферополь: ЮФ «КАТУ» НАУ, 2005. – 28 с.
16. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15, № 3. – P. 473–497.
17. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учебное пособие / Р. Г. Бутенко. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
18. Загорская М. С. Влияние сорта и длительности культивирования на клональное микроразмножение мяты *in vitro* / М. С. Загорская, Н. А. Егорова // *Материалы Международной научной конференции, посвященной 85-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси.* – 2017. – С. 205–208.
19. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур / И. В. Митрофанова. – Киев: Аграрна наука, 2011. – 344 с.

OPTIMIZATION OF THE NUTRIENT MEDIUM COMPOSITION FOR THE CLONAL MICROPROPAGATION *IN VITRO* MINT CULTIVARS AZHURNAYA AND BERGAMOTNAYA

Zagorskaya M. S., Yegorova N. A.

***Federal State Budget Scientific Institution «Research Institute of Agriculture of Crimea»,
Simferopol, Russia
E-mail: zagorskayamargo@gmail.com***

Mentha (also known as mint) is medicinal, essential oil and spicy aromatic plant in the family Lamiaceae widely distributed worldwide. To increase the efficiency of breeding process and seed production of this valuable crop, it is necessary to develop biotechnological methods of reproduction and sanitation. During a relatively short period of time when plant biotechnology was formed as an independent branch of science, results having great fundamental and applied importance were achieved. Clonal micropropagation and plant health improvement are best developed technologies nowadays. The increasing demand for high quality mint essential oil makes it necessary to develop effective biotechnological methods for clonal micropropagation of promising

varieties. Scientific work on creation mint cultivars with various component compositions of essential oil has been carried out in Federal State Budget Scientific Institution "Research Institute of Agriculture of Crimea" for many years. Highly menthol mint cultivar Azhurnaya and non-menthol cultivar Bergamotnaya are recently received and introduced into the State Register of Breeding Achievements of the Russian Federation. For these cultivars, it is promising to develop clonal micropropagation techniques *in vitro* for the purpose of accelerated reproduction and production of quality planting material, as well as *in vitro* preservation.

The aim of our research was to study the influence of nutrient medium composition on the morphometric parameters of explants at the 2nd stage of clonal micropropagation of cultivars Azhurnaya and Bergamotnaya. Fourteen modifications of MS medium with different content of growth regulators (BAP, IAA, GA₃, kinetin, TDZ, zeatin) and sucrose (1–3 %) were tested. The studies revealed that composition of nutrient medium and genotype had influence on the studied parameters of explants development (segments of the stem with one node). The greatest number of shoots per explant for Azhurnaya variety (3.4 pcs.) was on MS medium supplemented with BAP (1.0 mg/l), IAA (0.5 mg/l) and 1 % sucrose, while for Bergamotnaya (3.8 pcs.) – on MS medium supplemented with BAP (1.0 mg/l), GA₃ (0.5 mg/l) and 2 % sucrose. Length of shoots and number of nodes on them for Azhurnaya were maximum using hormone-free medium, while for Bergamotnaya – using medium with TDZ (0.1 mg/l), IAA (0.5 mg/l) and 2 % sucrose. Micropropagation by cutting main and adventitious shoots was used for multiplication *in vitro* at the 2nd stage. The multiplication index in this case reached the maximum value for Azhurnaya (12.6) on medium with 1.0 mg/l of kinetin, 0.5 mg/l of IAA and 2 % sucrose, and for Bergamotnaya (9.8) – by adding 1.0 mg/l of zeatin, 0.5 mg/l of IAA, and 2 % sucrose to culture medium. Rhizogenesis with a frequency of 80 to 100 % was observed on these media. This fact allows to exclude the phase of rooting *in vitro* in studied mint cultivars.

Keywords: *Mentha* spp., *in vitro*, clonal micropropagation, nutrient medium, plant growth regulators.

References

1. Pashetsky V. S., Nevkrytaya N. V., Mishnev A. V. and Nazarenko L. G. *Essential oil industry in the Crimea. Yesterday, today, tomorrow*, 243 p. (Simferopol: Publ. house "ARIAL", 2017).
2. Shulga E. B. New varieties of mint for the Crimea and other southern regions of Russia, *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*, **1** (9), 28 (2017).
3. Bugara I. A. and Maltseva O. A. Receive of *Mentha piperita* L. callus culture and their cytological characteristics when grown in nutrient medium with different concentrations of selenium, *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Series: Biology, chemistry*, **24** (63), **4**, 17 (2011).
4. Islam T., Leunufna S., Dembele D. P. and Keller J. E. R. *In vitro* conservation of four Mint (*Mentha* spp.) accession, *Plant Tissue Cult.*, **13** (1), 37 (2003).
5. Thul S. T. and Kukreja A. K. An efficient protocol for high-frequency direct multiple shoot regeneration from internodes of peppermint (*Mentha x piperita*), *Natural Product Communications*, **5**, **12**, 1945 (2010).
6. Laslo V., Zapartan M., Vicas S. and Agud E. Use of nodal explants in «*in vitro*» micropropagation of *Mentha piperita* L., *Analele universitatii din Oradea, Fascicula protectia mediului*, **16**, 247 (2011).
7. Bolouk S. G., Kazemitabar S. K. and Sinaki J. M. *In vitro* culture of the peppermint plant (*Mentha piperita*) without the use of hormones, *International journal of agriculture and crop sciences*, **6** (18), 1279 (2013)

8. Mehta J., Naruka R., Sain M., Dwivedi A., Sharma D. and Mirza J. An efficient protocol for clonal micropropagation of *Mentha piperita* L. (Pippermint), *Asian journal of plant science and research*, **2** (4), 518 (2012).
9. Raja H. D. and Arockiasamy D. I. *In vitro* propagation of *Mentha viridis* L. from nodal and shoot tip explants, *Plant tissue cult. & Biotech*, **18** (1), 1 (2008).
10. Gomes H. T., Bartos P. M., Marins A. E., De Olivera S. O. and Scherwinski-Pereira J. E. Assessment of mint (*Mentha* spp) species for large-scale production of plantlets by micropropagation, *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, **37**, 4, 405 (2015).
11. Yegorova N. A. Some aspects of essential oil plants biotechnology: microclonal propagation, synthesis of secondary metabolites *in vitro*, *Fiziologiya rastenij i genetika Physiology of Plants and Genetics*, **46**, 3, 187 (2014).
12. Bugara I. A. Induced morphogenesis and clonal micropropagation of promising mint varieties, abstract of diss. cand. biol. sci., 21 (Yalta, 2006).
13. Shulga E. B. The new high-productive mint variety Ajhurna, *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*, **1**, 55 (2013).
14. Kalinin F. L., Sarantskaya V. V. and Polischuk V. E. *Methods of tissue culture in plant physiology and biochemistry*, 488 p. (Kiev: Nauk. dumka, 1980).
15. Bugaenko L. A and Yegorova N. A. *Reproduction of plants in vitro and obtaining of a virus-free planting material (Methodical instructions)*, 28 p. (Simferopol: South Branch "Crimean Agrotechnological University" of the National Agrarian University, 2005).
16. Murashige T. and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant*, **15**, 3, 473 (1962).
17. Butenko R. G. *Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology on their basis: a textbook*, 160 p. (M: FBK-PRESS, 1999).
18. Zagorskaya M. S. and Yegorova N. A. Influence of cultivar and duration of cultivation on mint clonal micropropagation *in vitro*, *Proceedings of the International conference dedicated to 85th anniversary of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus*, 205 (2017).
19. Mitrofanova I. V. *Somatic embryogenesis and organogenesis as a base of biotechnology of perennial horticultural plants obtaining and conservation*, 344 p. (Kiev: Agrarna nauka Publ., 2011).

УДК 612.014.46:615.214:547.859

ВЛИЯНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ ВИАГРЫ И СОЛОДКИ И ИХ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ МОЛЛЮСКА *HELIX ALBESCENS*

Колотилова О. И., Чертаев И. В., Коренюк И. И.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: oxy1978@mail.ru*

С помощью внутриклеточного отведения исследовано влияние изолированных растворов виагры и солодки и их совместного молекулярного комплекса в концентрации 10^{-3} М на электрическую активность неидентифицированных нейронов висцерального ганглия моллюска *Helix albescens Rossm.* Продемонстрированы отчетливые нейротропные эффекты. Сделан вывод, что тестируемые вещества в зависимости от структуры молекулы и используемой концентрации могут как активировать, так и угнетать функциональное состояние нейронов.

Ключевые слова: солодка (глицеризиновая кислота), виагра (силденафил), молекулярный комплекс (солодка и виагра), нейротропные эффекты.

ВВЕДЕНИЕ

Резкое снижение адаптационных возможностей и функциональных резервов – реальность современного состояния организма человека. В современной спортивной практике при постоянно возрастающих объемах и интенсивности тренировочных и соревновательных нагрузок остро стоит проблема поиска мягко действующих природных адаптогенов, способных повысить физические возможности организма и обеспечить адекватный уровень психоэмоциональной активности благодаря изысканию фармакологических препаратов, повышающих адаптационные свойства нейронов и функционального состояния организма в целом. Нам представляется, что это возможно с применением фармакологических корректоров, например препаратов солодки, виагры и особенно их молекулярного комплекса, поскольку известно, что эти препараты при изолированной экспозиции на нейроны в зависимости от применяемой концентрации имеют активирующие или угнетающие нейротропные эффекты [1–3]. Так, например, в отношении препарата солодки (глицеризиновая кислота) известен широкий спектр фармакологически важных для организма человека эффектов (антиаллергические, антисептические, ранозаживляющие, тонизирующие и др.) [4].

В частности, ранее нами установлено, что раствор индивидуального цитрата силденафила приводит к выраженным нейротропным эффектам [2], а в высоких концентрациях проявляется его нейротоксическое и даже летальное действие. При системном введении он оказывает благоприятное действие на эректильную

функцию за счет способности селективно ингибировать фосфодиэстеразу 5-го типа [5]. Однако в концентрации 10^{-2} М этот раствор оказывает токсическое необратимое нейротропное действие [1].

Цель настоящего исследования заключалась в определении направленности и выраженности нейротропных эффектов препаратов солодки, виагры и их молекулярного комплекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эффекты экспозиции виагры в чистом виде исследованы на 21-ом; солодки на 20-ти, и молекулярного комплекса (солодка+виагра) на 20-ти неидентифицированных нейронах висцерального ганглия моллюска *Helix albescens* *Rossm.* в концентрации 10^{-3} М при непосредственном контакте тестируемых растворов с наружной поверхностью мембран нервных клеток.

Эксперименты выполняли по общепринятой методике внутриклеточного отведения биопотенциалов [6]. Процедура исследования активности каждого нейрона проводилась по схеме: фон – 1–1,5 мин., экспозиция вещества в концентрации 10^{-3} М – 5–6 мин. и 20 мин. отмывания. Параметры потенциалов усреднялись за каждый период записи. Полученные данные обрабатывали с использованием непараметрического критерия Вилкоксона. Данные представлены как средние значения \pm ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изолированном воздействии виагры в концентрации 10^{-3} М (рисунок 1А) на фоне незначительной гиперполяризации мембраны нейронов первоначально увеличивалась частота следования потенциалов действия (ПД), а также происходило существенное уменьшение амплитуды. После 4 минуты экспозиции виагры происходило снижение частоты следования ПД. В целом, можно сказать, что функциональное состояние нейронов при изолированном воздействии виагры ухудшалось. В среднем по группе ($n = 21$) при воздействии виагры в указанной концентрации амплитуда ПД была ниже исходного уровня на 16 % (рисунок 2). Анализ первой производной (рисунок 1А, 2) позволил выявить, что скорости развития суммарных входящих и выходящих трансмембранных ионных токов по сравнению с фоновыми значениями снижались (в среднем до $78,7 \pm 10,1$ и $73,6 \pm 9,7$ % соответственно; $p \leq 0,05$), то есть наблюдалось угнетение как натриевых, так и калиевых ионных токов мембраны.

При аппликации изолированного раствора солодки в концентрации 10^{-3} М непосредственно на мембрану нейрона происходило несущественное снижение амплитуды ПД, а примерно с 4-й минуты экспозиции наблюдалось урежение частоты следования ПД, а также отмечено возрастание выходящих суммарных трансмембранных ионных токов (рисунок 1Б, 2), однако эти изменения не достигали статистической значимости.

Молекулярный комплекс виагры с солодкой в концентрации 10^{-3} М по сравнению с фоном достоверно увеличивал частоту следования ПД ($p \leq 0,05$, $n = 20$)

на 38,8 % (рисунок 2В), на 10,3 % увеличивал скорость нарастания суммарных выходящих трансмембранных ионных токов (рисунок 1В, 2). Также этот комплекс достоверно снижал на 10,1 % значение мембранного потенциала, то есть наблюдалась деполяризация мембраны нейронов, что облегчало ее возбудимость. Следовательно, совместный молекулярный комплекс виагра+солодка обладал активирующим нейротропным эффектом.

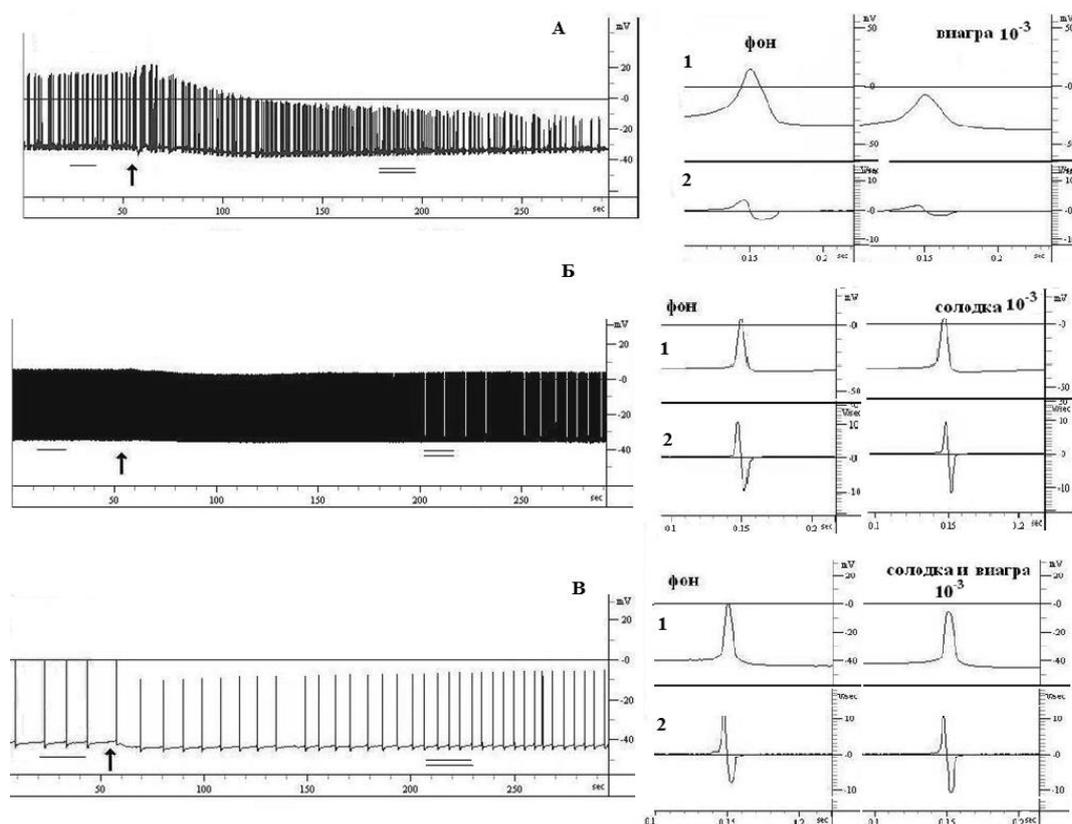


Рис. 1 Эффекты экспозиции виагры (А), солодки (Б) и их комплекса (В) в концентрации 10^{-3} М на параметры электрических потенциалов неидентифицированных нейронов висцерального ганглия.

Примечание: 1 – усредненный ПД; 2 – его первая производная, вверху над нулевой линией графика она отражает скорость нарастания суммарных входящих трансмембранных ионных токов, а внизу – выходящих токов. Фрагменты усреднения нейрограммы подчеркнуты горизонтальной линией (одинарной для фона и двойной – для экспозиции вещества); стрелкой отмечен момент аппликации

Таким образом, результаты тестирования эффектов изолированных препаратов виагры и солодки, а также их совместного молекулярного комплекса в концентрации 10^{-3} М показали их выраженные нейротропные свойства (рис. 2), которые отражаются на динамике ряда электрофизиологических показателей

функционального состояния нейронов. Протестированные нами соединения ускоряют процессы электрогенного транспорта ионов и в зависимости от молекулярной структуры вещества активируют/ингибируют суммарные входящие и выходящие ионные токи, участвующие в генерации ПД. Считаем, что в основе эффектов протестированных комплексов лежит селективное возбуждение/угнетение разных типов рецепторов мембраны, которые в свою очередь модулируют работу соответствующих ионных каналов.

Можно также предполагать, что в перспективе эти вещества возможно использовать для модуляции возбудимости нейронов не только моллюсков, но и млекопитающих, однако этот вопрос нуждается в дальнейших исследованиях.

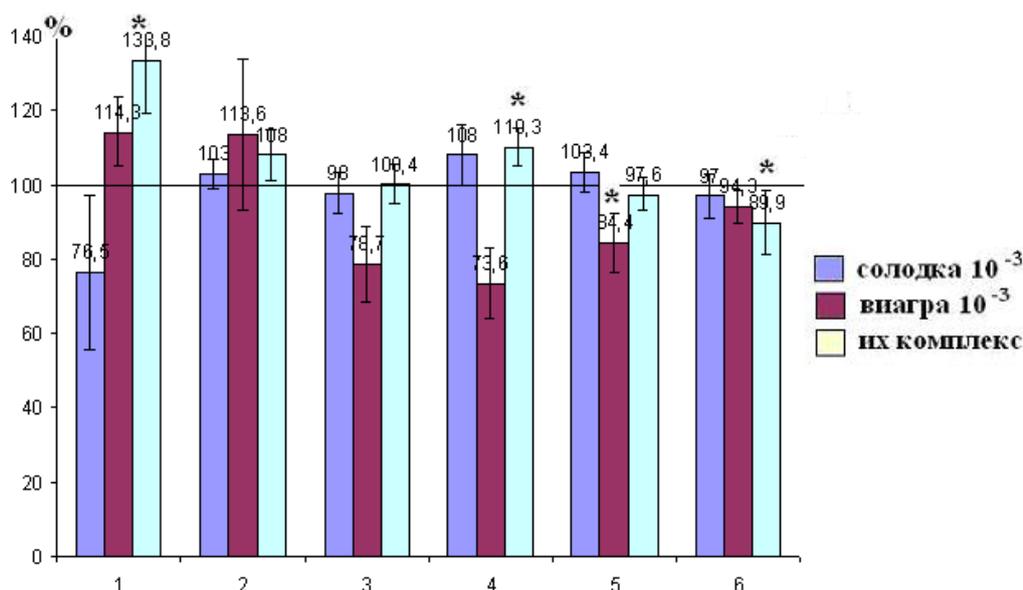


Рис. 2 Диаграмма показателей функционального состояния нейронов висцерального ганглия улитки при экспозиции изолированных растворов виагры и солодки и их молекулярного комплекса в концентрации 10^{-3} М.

Примечание: относительные показатели (%): частота генерации импульсов – (1); продолжительность потенциала действия – (2); скорость суммарных входящих (3) и выходящих (4) трансмембранных ионных токов; амплитуда потенциалов действия – (5); значения мембранного потенциала – (6). За 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей. Звездочкой обозначены случаи достоверных отличий от фоновых показателей, ($p \leq 0,05$)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Раствор виагры в концентрации 10^{-3} М оказывает преимущественно угнетающее действие на функциональное состояние нейронов, которое выражается в снижении исходного уровня скорости развития суммарных входящих и

выходящих трансмембранных ионных токов (до $78,7 \pm 10,1$ и $73,6 \pm 9,7$ % соответственно; $p \leq 0,05$) и амплитуды ПД на 16 %.

2. Раствор солодки в концентрации 10^{-3} М не вызывает достоверных изменений функционального состояния нейронов, однако проявляет тенденцию к угнетающему эффекту, выражающемуся в снижении частоты генерации импульсов.
3. Молекулярный комплекс виагры и солодки в концентрации 10^{-3} М проявляет активирующий нейротропный эффект, что выразилось в достоверном увеличении частоты следования ПД (на 38,8 %; $p \leq 0,05$, $n = 20$) и скорости нарастания (на 10,3 %) суммарных выходящих трансмембранных ионных токов, а также снижении на 10,1 % ($p \leq 0,05$, $n = 20$) мембранного потенциала.

Список литературы

1. Колотилова О. И. Влияние виагры и ее комплексов с тритерпеновыми гликозидами на электрическую активность нейронов моллюска *Helix albescens* / О. И. Колотилова, Л. А. Яковишин, И. И. Коренюк, В. И. Гришконец, О. В. Катюшина // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология. Химия». – 2010. – Т. 23 (62). – № 2. – С. 96–103.
2. Колотилова О. И. Тестирование нейротропных эффектов виагры / О. И. Колотилова, И. И. Коренюк, Д. Р. Хусаинов и др. // Нейрофизиология / Neurophysiology. – 2011. – 43, № 5. – С. 460–465.
3. Костюченко О. В. Влияние тритерпеновых гликозидов на изменение электрической активности идентифицированных нейронов моллюска / О. В. Костюченко, В. И. Гришконец, Е. А. Соболев и др. // Химия природ. соедин. – 2001. – № 1. – С. 39–42.
4. Костюченко О. В. Особливості дії рослинних глікозидів на нейрони слимака / О. В. Костюченко, В. І. Гришконець, І. І. Коренюк // Фізіологічний журнал. – 2001. – Т. 47, № 4. – С. 42–48.
5. Halcox J. P. The effect of sildenafil on human vascular function, plate let activation and myocardial ischemia / J. P. Halcox, K. R. Nour, G. Zalos [etal.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2002. – Vol. 40, № 7. – P. 1232–1240.
6. Коренюк І. І. Вплив бензимидазолу та його похідних на електричні показники ідентифікованих нейронів моллюска *Helix albescens* / І. І. Коренюк, Т. В. Гамма, М. Ю. Баєвський [та ін.]. // Фізіол. журн. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 34–43.

THE INFLUENCE OF OZONIZED SOLUTIONS VIAGRA AND LICORICE AND THEIR MOLECULAR COMPLEX ON THE ELECTRICAL ACTIVITY OF NEURONS OF THE MOLLUSK *HELIX ALBESCENS*

Kolotilova O. I., Cheretaev I. V., Korenyuk I. I.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation
E-mail: oxy1978@mail.ru*

With the help of intracellular diversion the effect is studied of the isolated solutions of viagra and licorice and their joint molecular complex at a concentration of 10^{-3} M on the electrical activity of unidentified neurons of the visceral ganglion of the mollusk *Helix albescens* Rossm. Distinct neurotropic effects are demonstrated. It is concluded that the

tested substances, depending on the structure of the molecule and the concentration used, can both activate and inhibit the functional state of neurons. Thus, the solution of viagra in a concentration of 10^{-3} M has a predominantly depressing effect on the functional state of neurons, which is expressed in a decrease in the initial level of the rate of development of the total incoming and outgoing transmembrane ion currents (up to 78.7 ± 10.1 and 73.6 ± 9.7 %, respectively; $p \leq 0.05$) and the amplitude of the action potential by 16 %. The solution of licorice in a concentration of 10^{-3} M does not cause significant changes in the functional state of neurons, but tends to depressing effect, expressed in reducing the frequency of pulse generation. The molecular complex of viagra and licorice in a concentration of 10^{-3} M exhibits an activating neurotrophic effect, which was expressed in a significant increase in the frequency of the action potential (by 38.8 %; $p \leq 0.05$, $n = 20$) and the rate of increase (by 10.3 %) of the total outgoing transmembrane ion currents, as well as a decrease in the membrane potential by 10.1 % ($p \leq 0.05$, $n = 20$).

Keywords: licorice (glycyrrhizic acid), viagra (sildenafil), molecular complex (licorice and viagra), neurotrophic effects.

References

1. Kolotilova O. I., Yakovishin L. A., Korenyuk I. I., Grishkovets V. I., Katusina O. B. Influence of viagra and its complexes of triterpene glycosides on electrical activity of neurons *Helix albescens* molluska, *Scientific notes of Taurida national University. V. I. Vernadsky. Series: Biology. Chemistry*, **23 (62)**, 2, 96 (2010).
2. Kolotilova O. I., Korenyuk I. I., Husainov D. R. [et al.] Testing neurotrophic effects of viagra, *Neurophysiology*, **43, 5**, 460 (2011).
3. Kostyuchenko O. V., Grishkovets V. I., Sobolev E. A. and others. Influence of triterpene glycosides on electrical activity changes of identified Mollusca neurons, *Chemistry of natural. connect.*, **1**, 39 (2001).
4. Kostyuchenko O. V., Grishkovets V. I., Korenyuk I. I. Peculiarities of the effect of plant glycosides on the neurons of the mollusk, *Fiziologichny journal*, **47, 4**, 42 (2001).
5. Halcox J. P., Nour K. R., Zalos G. [et al.] The effect of sildenafil on human vascular function, plate let activation and myocardial ischemia, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **40, 7**, 1232 (2002).
6. Korenyuk I. I., Gamma T. V., Baevsky M. Y. [et al.] The effect of benzimidazole and its derivatives on electrical characteristics of identified neurons in the mollusk *Helix albescens*, *Fiziol. Journ.*, **48, 2**, 34 (2002).

УДК 575.164

РОЛЬ ФАКТОРОВ РОСТА В ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Мараховская Т. А.

*Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия
E-mail: tmarakhovskaya@mail.ru*

Данный обзор литературы посвящен участию факторов роста в развитии и течении беременности. В статье рассмотрены молекулярно-генетические характеристики факторов роста, их участие в пролиферации и ангиогенезе, роль в имплантации и плацентации. Уже на стадии четырех бластомеров у эмбриона отмечается синтез белков факторов роста. Так как продукты генов взаимосвязаны в метаболических путях, изменение их функционирования может запускать процессы апоптоза и, как следствие, нарушение функционирования синцитиотрофобласта, что может привести к недостаточной инвазии трофобласта и потере беременности. Баланс между процессами апоптоза и пролиферации имеет решающее значение для поддержания беременности, и нарушение их регуляции может привести к ее потере в первом триместре. Показана связь однонуклеотидных полиморфизмов генов факторов роста и их экспрессии с нарушением течения беременности на основе анализа отечественных, зарубежных исследований и собственных данных. Данные об ассоциации полиморфизмов генов факторов роста противоречивы, их влияние на механизмы регуляции клеточного цикла до конца не ясно, что свидетельствует об актуальности дальнейших исследований в этом направлении.

Ключевые слова: гены факторов роста, ангиогенез, апоптоз, невынашивание беременности, фетоплацентарный комплекс, полиморфизм генов.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФАКТОРОВ РОСТА

Факторы роста – белковые молекулы, регулирующие пролиферацию и дифференцировку клеток. В отличие от гормонов факторы роста, как правило, продуцируются неспециализированными клетками, находящимися во всех тканях, и обладают эндокринным, паракринным и аутокринным действием [1]. Система факторов роста включает несколько компонентов: белки факторов роста, специфические клеточные рецепторы и связывающие белки, регулирующие количество факторов роста, действующие на клетки-мишени [2].

Первое вещество, названное фактором роста, было открыто биологами Стэнли Коэном и Ритой Леви-Монтальчини в 1952 году. После пересадки дополнительной конечности эмбриону цыпленка, они обнаружили, что у эмбриона появляются дополнительные нервные окончания вокруг трансплантата. Затем они пересадили тому же эмбриону клетки опухоли мыши, и чувствительные нервные окончания появились уже в опухоли. Экстракт, выделенный из опухоли, и был назван фактором роста: NGF (nerve growth factor) [3]. Затем последовала череда открытий других ростовых факторов: основной фактор роста фибробластов (Ю. Шинг и М. Клагсбрюн (1984)), сосудисто-эндотелиальный фактор роста (Н. Феррара (1989)) и другие факторы, участвующие в ангиогенезе [4].

Часто исследователи используют термин «факторы роста» как синоним термина «цитокины». В частности, интерлейкины также относят к факторам роста, ориентированным на клетки кроветворного/иммунного происхождения [5]. У Кетлинского С. А. и Симбирцева А. С. в классификации цитокинов факторы роста выделены в отдельные семейства (таблица 1).

Таблица 1
Функциональная классификация семейств факторов роста [6]

Семейства факторов роста	Факторы роста	Функции
Факторы роста гемопоэтических клеток	Фактор роста стволовых клеток (kit-ligand, steel factor), Flt3 ligand, IL3, GMCSF, GSCF, MSC, IL7, IL11, эритропоэтин, тромбопоэтин	Стимуляция пролиферации и дифференцировки клеток-предшественниц кроветворения, регуляция кроветворения
Семейство интерлейкина 1 и фактора роста фибробластов	IL1A, IL1B, рецепторный антагонист IL1, IL18, фактор роста фибробластов	Провоспалительное действие, активация специфического иммунитета
Суперсемейство факторов роста нервов, тромбоцитарного ростового фактора и трансформирующих ростовых факторов	Семейство факторов роста нервов (NGF), мозговой нейротрофический фактор Факторы роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) Семейство TGF: TGFB, аквитины, ингибины, костные морфогенетические белки	Регуляция воспаления, ангиогенеза, функционирования нейронов, эмбрионального развития и регенерации тканей
Семейство эпидермального ростового фактора	EGF, TGFA, гепарин-связывающий белок эпидермального фактора роста (HB-EGF), рецептор ацетилхолина, индуцирующий активность (ARIA), глиальный фактор роста (GGF), Амфирегулин (AR), Эпирегулин (EPR), Бетацеллюлин (BTC), Нейррегулин-1 -4 (NRG1 -4)	Стимуляция пролиферации различных типов клеток
Семейство инсулиноподобных ростовых факторов	IGF1, IGF2	Стимуляция пролиферации различных типов клеток

Белки семейства факторов роста фибробластов («плюрипотентные» факторы роста) синтезируются главным образом эндотелиальными клетками и эпителиальными клетками [7]. Семейство включает 22 белковых молекулы FGF. Они обнаруживаются во внеклеточном матриксе, в цитоплазме, в ядре клетки [8]. Во время эмбриогенеза они отвечают за правильный ангиогенез, формирование нейрулы и развитие нервной системы, цефализацию, развитие конечностей, а в зрелых тканях – их регенерацию [9, 10]. Любое отклонение от нормы в работе белка фактора роста фибробластов может привести к ряду дефектов в развитии. Мутации в генах FGF и их рецепторов могут обуславливать различные аномалии: синдактилию, брахидактилию, сращение или искривление длинных костей и др. Так, за ахондроплазию ответственны мутации в гене *FGFR3* – замена аргинина на глицин в положении 380 (*R380G*), которая входит в состав трансмембранного домена этого белка. Другой высокомутабельный сайт в положении 250 аминокислотной последовательности вовлечен в проявление синдрома Мюнке, мутации в других сайтах этого гена вызывают танатофорную дисплазию [11]. Мутантные мыши, дефицитные по гену *FGFR1*, умирают во время позднего эмбриогенеза и имеют дефекты в закрытии нервной трубки [12].

Инсулиноподобные факторы роста (IGF1 и IGF2, соматомедин С и соматомедин А соответственно) названы так из-за своей схожести в строении с инсулином. Зрелый белок IGF1 имеет α и β -цепи, гомологичные таковым инсулина. В отличие от инсулина они подвергаются протеолитическому расщеплению, имеют в составе дополнительный короткий компонент D, который отсутствует в молекуле инсулина, содержат С-концевой Е-пептид, который отщепляется в аппарате Гольджи в процессе секреции. IGF1, IGF2, инсулин (INS), их рецепторы (IGF1R, IGF2R, IR) и шесть связывающих белков (IGFBP1–6) выделяют как ключевые регуляторные факторы пре- и постнатального роста [13, 14]. В зависимости от рецептора, с которым связывается инсулиноподобный фактор роста, в клетке запускаются различные механизмы: митогенные эффекты опосредованы связыванием IGF с его рецептором IGF1R [15] и связыванием IGF-2 с IR-A изоформой, а связывание с IR-B изоформой опосредует метаболические эффекты. *In vitro* IGF1 и IGF2 защищают многие типы клеток от различных проапоптотических стимулов. В экспериментах *in vivo* сниженная экспрессия IGF1 и IGF2 ассоциируется с активацией апоптоза [16]. Концентрация IGF1 в I–II триместрах имеет прямую корреляцию с массой плода. Более высокие концентрации белка соответствуют большей массе плода [17]. Эксперименты с выключением гена *IGF* на мышях и других зверях показывают, что в 3-м триместре (когда ключевую роль в росте плода играет поставка нутриентов от матери к плоду) IGF1 становится одним из главных регуляторов его роста [10]. Показано, что IGF1 участвует в развитии плацентарной недостаточности и преэклампсии. В норме беременность сопровождается повышением концентрации IGF1, в то время как у пациенток, беременность которых осложнена синдромом задержки развития плода или преэклампсией, отмечаются сниженные концентрации IGF1 по сравнению с физиологической беременностью [18, 19]. Гены *IGF1* и *IGF2* локализируются на хромосомах 12q23.2 и 11p15.5 соответственно.

Белки семейства эпидермального фактора роста индуцируют миграцию клеток и экспрессию генов, участвующих в таких процессах, как имплантация бластоцисты, миграция и пролиферация эпителиальных клеток, заживление ран, костная реабсорбция, атеросклероз, рост опухоли [7, 20]. Характеристика некоторых генов этого семейства представлена в таблице 2 [21].

Таблица 2
Локализация генов семейства эпидермального фактора роста

Ген	Место синтеза белков	Локализация в хромосоме
<i>EGF</i>	Тромбоциты (костный мозг)	4q25
<i>HB-EGF</i>	Макрофаги, моноциты, Т-лимфоциты, гладкие мышцы и эндотелиальные клетки	5q23
<i>TGFA</i>	Макрофаги, клетки сосудов гладких мышц	2q13
<i>BTC</i>	Макрофаги, клетки сосудов гладких мышц	4q13–21
<i>AREG</i>	Активированные моноциты человека	4q13–21
<i>EPR</i>	Макрофаги периферической крови, клетки сосудов гладких мышц	4q13.3

EGF – мощный митогенетический фактор. Показано, что EGF регулирует имплантацию, рост и дифференцировку плаценты. При изучении *in vitro* влияния EGF непосредственно на культуру клеток плаценты человека было доказано, что он ускоряет дифференцировку и пролиферацию трофобласта, тормозя его апоптоз [10]. Он также играет роль в регуляции синтеза различных веществ, специфических для беременности, таких как простагландин 2, бета-хорионический гонадотропин человека, плацентарный лактоген человека и прогестерон. Снижение функциональной активности его рецептора, EGFR, связывают с замедлением роста эмбриона как у мышей, так и у человека. EGF на 40 % гомологичен последовательности TGFA и конкурирует с ним за связывание с рецептором EGFR. Путь TGFA – EGFR, как и EGF – EGFR, является активным в плаценте [22].

TGFB – мультифункциональный цитокин, который совместно с его рецептором продуцирует практически каждая клетка в организме. Во время беременности TGFB продуцируется главным образом клетками трофобласта и вовлечен в их инвазию, пролиферацию и дифференцировку, способствует процессам репарации ран и непосредственно стимулирует ангиогенез. Вместе с тем он подавляет пролиферацию и миграцию гладкомышечных и эндотелиальных клеток. Подавление гемопоэза, синтеза провоспалительных цитокинов, ответ лимфоцитов на интерлейкины-2,4,7, формирование цитотоксических NK-клеток и Т-клеток оказывает ингибирующие эффекты на иммунную систему [6, 23]. Продукт гена *TGFB* имеет три изоформы – TGFB1, TGFB2, TGFB3, гены которых расположены на хромосоме 19q13.1 для *TGFB1*, 1q41 для *TGFB2* и 14q24 для *TGFB3*. Полипептиды образуют высоко гомологичную группу соединений, где зрелые формы TGFB1 и TGFB2 характеризуются 71,4 % соответствием в их

аминокислотных последовательностях, в то время как TGFB3 с TGFB1 и TGFB2 – 76 % и 80 % соответственно [24]. Основной изоформой, секретируемой клетками иммунной системы, является TGFB1. Показано, что TGFB1 индуцирует апоптоз эпителиальных, эндотелиальных, гемапоэтических клеток как через p53-зависимые, так и через p53-независимые механизмы [25]. Одновременно TGFB1 также индуцирует экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста [26, 27].

Семейство регуляторов ангиогенеза VEGF представлено несколькими гликопротеинами (VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD) и плацентарным фактором роста (PGF) [28, 29]. Ген *VEGFA* расположен на *bp21.1*. Пептид представлен несколькими изоформами: VEGFA₁₂₁, VEGFA₁₆₅ (представлена преимущественно), VEGFA₁₈₉, VEGFA₂₀₆ (встречается реже всего). VEGFA₁₂₁ существует в растворимой форме. Значительная часть VEGFA₁₆₅ остается в связанном состоянии на клеточной поверхности или во внеклеточном матриксе, VEGFA₁₈₉ и VEGFA₂₀₆ практически полностью находятся в связанном состоянии [9]. Продуцируется VEGFA практически во всех тканях и является одним из главных регуляторов ангиогенеза, осуществляет увеличение проницаемости сосудов и пролиферацию эндотелиальных клеток [30, 31].

VEGFB локализован на 11 хромосоме (11q13.1). В отличие от *VEGFA* экспрессируется на ранних стадиях эмбрионального развития. Продукт гена представлен двумя изоформами VEGFB₁₆₇ и VEGFB₁₈₆. Локализуется в основном в миоцитах скелетной мускулатуры и кардиомиоцитах [9]. VEGFC также увеличивает проницаемость сосудов, стимулирует миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток, лимфоангиогенез [9, 29]. *VEGFC* расположен на 4q34.3, изоформы отсутствуют. VEGFD (*Xp22.2*) гомологичен на 48 % VEGFC по последовательности аминокислот. Экспрессируется в основном в скелетных мышцах, сердце, легких, кишечнике [9]. Индуцирует лимфоангиогенез [29].

Выделяют несколько групп рецепторов белков семейства VEGF: VEGFR1 (продукт гена *FLT1*), VEGFR2 (KDR), VEGFR3 (продукт гена *FLT4*), нейропилины -1, -2 [32, 33]. Рецепторы VEGFR1 экспрессируются практически только в клетках эндотелия кровеносных сосудов, VEGFR3 во взрослом организме преимущественно обнаруживается в эндотелии лимфатических сосудов [32].

Одним из активаторов VEGF является гипоксия. Имплантация эмбриона и развитие беременности на ранних сроках происходят в условиях недостатка кислорода (2-3% O₂) [31]. Гипоксия-индуцируемый фактор HIF-1A необходим для активации транскрипции *VEGF* в ответ на гипоксию [34, 35]. В результате VEGF вызывает NO-зависимую вазодилатацию через взаимодействие со своими рецепторами VEGFR-1 и VEGFR-2, что приводит к активации протеиназы B (Akt). Akt фосфорилирует эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS) [36, 37]. Под влиянием этого фермента происходит окисление L-аргинина с выделением NO [38]. Во время беременности он влияет на имплантацию, децидуализацию, регуляцию кровотока в плаценте. В оптимальной концентрации NO стимулирует процессы внутриутробного развития; в то же время его дефицит приводит к остановке развития эмбриона, а избыток вызывает дегенерацию зародыша [39, 40]. VEGF

стимулирует мобилизацию кальция из внутриклеточных депо, который, в свою очередь, усиливает активность Са-зависимой NO-синтетазы [41].

Цитогенетическая локализация *PGF* 14q24.3. Белок представлен четырьмя изоформами: *PGF1*, *PGF2*, *PGF3*, *PGF4* и структурно имеет гомологию с *VEGFA*. Синтезируется главным образом в плаценте, сердце, легких, щитовидной железе, жировой ткани [42]. Принимает непосредственное участие в ангиогенезе [43]. Однако по сравнению с *VEGF* его роль в образовании новых сосудов менее понятна. Отсутствие плацентарного фактора у трансгенных мышей не ведет к нарушению ангиогенеза во время эмбрионального и постнатального развития, но нарушает ангиогенез при различных патологических условиях. *PlGF* может синергично усиливать *VEGF*-индуцированный ангиогенез и проницаемость сосудов [44]. В литературе отсутствуют данные, доказывающие вовлеченность *PGF* в патогенез ранних выкидышей, в то же время дефицит данного фактора ассоциируется с формированием перинатальной патологии, манифестирующей во второй половине гестации [44]. У женщин с синдромом задержки развития плода уровень *PGF* ниже во всех триместрах гестации по сравнению с таковым у беременных контрольной группы [45].

УЧАСТИЕ ФАКТОРОВ РОСТА В ПРОЛИФЕРАЦИИ: НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

Факторы роста играют важную роль в пресинтетической стадии интерфазы митоза, осуществляя переход в синтетическую, или переводят клетку в стадию *G0*. *IGF*, *EGF*, *VEGF*, *PDGF*, *CSF*, *FGF*, *IL1* стимулируют рост клетки и ее деление. *TGF β* и *TNFA* выступают и как стимуляторы, и как ингибиторы роста [46–50].

Семейство рецепторов *EGF* включает *EGFR*, *HER2*, *HER3* и *HER4*. Эти рецепторы обладают протеинкиназной активностью, локализованы на клеточной мембране и стимулируются многочисленными лигандами – *EGF*, бета-целлюллин (*BTC*), *TGFA*, а также нейрогулинами (*NRG*). *EGF* имеет возможность активировать *EGFR*, *HER2* и *HER3*; *TGFA* активирует только *HER3*; *NRG1-4* может связывать *HER3* и *HER4*; *BTC* активирует *EGFR* и *HER4* [51]. Это событие приводит к активации протеинкиназы и фосфорилированию тирозиновых остатков. Сайты фосфорилирования семейства рецепторов *EGF* служат местами стыковки для различных белков, которые участвуют в регуляции и последующей активации различных внутриклеточных сигнальных каскадов *PI3K/Akt*, *c-Src* и *MAPK*-пути [52]. Путь *PI3K/Akt*, активируемый комплексом *EGF-EGFR*, приводит к транскрипции *c-Myc* и *cyclin D1*, которые способствуют росту и пролиферации клеток, и может ингибироваться *NDRG1*.

К семейству тирозинкиназ также относятся рецепторы других факторов роста, включая тромбоцитарный фактор роста, фактор роста эпидермиса и плацентарный фактор роста [51].

Для инсулиноподобного фактора роста показано, что в физиологических концентрациях *in vitro* *IGF1* и *IGFII* защищают многие типы клеток от различных проапоптотических стимулов. В экспериментах *in vivo* сниженная экспрессия этих

генов ассоциировалась с активацией апоптоза [16]. В клетке IGF активизирует пути, ведущие к стимуляции пролиферации, клеточной подвижности путем связывания с субъединицами IGF1R. Они включают путь с вовлечением митоген-активируемой протеинкиназы через последовательную активацию Ras, Raf, MEK и ERK. Это приводит к увеличению экспрессии циклина D и прохождению через точку рестрикции [47, 53]. Передачу сигналов через MAPK осуществляют также TGFB, VEGF [54, 55]. Фосфатидилинозитол-3-киназный путь, опосредованный взаимодействием киназ PI3-K, PDK, Akt, также приводит к успешному делению клетки [47, 48].

Morrish с коллегами была показана отрицательная регуляция дифференциации клеток трофобласта через TGFB1 сигнализацию [56]. TGFB ингибирует активность обоих комплексов циклин D-Cdk4/6 и циклин E/Cdk2 [57]. Добавление TGFB1 к культуре клеток цитотрофобласта, стимулированных к дифференцировке в присутствии EGF, приводило к уменьшению их синцитиализационного потенциала наряду с уменьшением секреции hCG и плацентарного лактогена [56]. Каждый член семейства TGFB связывается с рецепторами типа I или II, что приводит к их автофосфорилированию и последующей активации smads (R-smad: smad2 и smad3; со-smad: smad4). Фосфорилированные R-smads связываются с белком smad4, входят в ядро и активируют транскрипцию генов, тормозящих процессы инвазии клеток [58]. На линии HTR-8 / SVneo клеток трофобласта было показано, что TGFB через smad2 снижает уровень клеточной адгезии молекулы VE-кадгерина и препятствует их инвазии [59]. Подавление сигналов TGFB приводит к повышенной активности циклина E-CDK2, а затем к более высоким уровням циклина E [49]. Ferrari с коллегами показали, что апоптотическая активность TGFB1 на эндотелиальных клетках контролируется FGF2 и VEGFA. VEGFA защищает эндотелиальные клетки от апоптоза через активацию p38^{MAPK} без участия TGFB1. Стимуляция апоптоза, опосредованного TGFB1, также требует активации пути p38^{MAPK} → VEGF/ VEGFR1, что осуществляется за счет усиления экспрессии VEGFA и FGF2. Снижение экспрессии VEGFR1 способствует выживанию, пролиферации и миграции эндотелиальных клеток [60].

Для развития плода рецептор фактора роста эндотелия сосудов VEGFR2, имеет решающее значение, поскольку его инактивация приводит к ранней эмбриональной смертности у мышей [61]. VEGFR2 играет важную роль не только в дифференцировке, пролиферации и проницаемости эндотелия сосудов, как было упомянуто выше, но также и в других не менее важных аспектах, таких как выживание и миграция эндотелиоцитов. Это осуществляется через дополнительный путь Akt / phosphoinositide 3 kinase (PI3K), который может индуцироваться VEGF через белковую тирозинкиназу AXL [62].

РОЛЬ ФАКТОРОВ РОСТА В РАЗВИТИИ И ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Уже на стадии 4-х бластомеров показано наличие TGFA и внутриклеточного домена к рецептору EGF. Эндометриальный TGFA играет определенную роль в подготовке эмбриона и/или эндометрия к имплантации путем прямого контакта

трансмембранной формы TGFA на клетках эндометрия и рецептором эпидермального фактора роста эмбриона или эндометриальных клеток [63]. На стадии 8- и 14-ти клеток обнаружены внутри- и внеклеточные домены к рецептору EGF, IGF1 и IGF1R [64]. Клетками бластоцисты секретируется TGFB1 [6]. Протеины инсулиноподобных факторов роста играют роль в процессе имплантации, в моделировании сосудистых реакций, регулировании роста миометрия. IGF1 продуцируется плацентой и регулирует переход питательных субстратов через плаценту к плоду и таким путем обеспечивает рост и развитие плода [65], в эпителии матки экспрессируются IGF1 и IGF2 [66]. Децидуальные стромальные клетки и NK-клетки продуцируют цитокины CSF1 и TGFB, необходимые для роста и развития трофобласта, пролиферации и дифференцировке [65].

Ремоделирование спиральных артерий имеет решающее значение для нормального роста и развития плода. В начале первого триместра в плаценте кровообращение и окислительный стресс как таковые отсутствуют [67]. Первые признаки плацентарного ангиогенеза наблюдаются на 3 неделе беременности. В первые недели беременности клетками цитотрофобласта интенсивно экспрессируется хорионический гонадотропин, положительно влияющий на ангиогенез и экспрессию эндотелиального фактора роста сосудов [68], стимулирующий дифференциацию трофобласта. На 11 неделе беременности уровень его экспрессии падает, оставаясь стабильным до 34 недель беременности [65, 69]. Между 8 и 12 неделями беременности цитотрофобластические пробки, образованные эндovasкулярным цитотрофобластом, высвобождаются, способствуя перфузии клеток трофобласта материнской кровью [70, 71]. К концу первого триместра в плаценте отмечаются максимальные значения уровни TGFB, EGF, FGF и IGF, которые снижались ко второму триместру [72]. Это совпадает с резким усилением окислительного стресса. Примерно с 9-ой по 23-ю недели беременности происходит расширение капиллярного слоя плода путем ветвления [70, 71]. Этот период характеризуется высокой экспрессией VEGF и умеренной PGF. С 25-й недели до конца беременности происходит резкое снижение концентрации VEGF [42, 73]. Ангиогенез продолжается до срока созревания кровеносных сосудов и развития более сложной сосудистой сети для облегчения экспоненциального роста плода [67]. В ходе беременности наблюдается рост метаболических потребностей у плода, как следствие наблюдается увеличение активности митохондрий в клетках плаценты и активности митохондриальных ферментов. Это способствует усилению работы активных форм кислорода и увеличению окислительного стресса [74]. Концентрация PlGF возрастает в 4 раза от конца первого к концу второго триместра физиологически протекающей беременности [44] и после 25-ой недели и наблюдается медленное снижение экспрессии этого гена [73]. Таким образом, факторы роста вносят вклад в развитие и протекание беременности на всех ее этапах и являются одними из основополагающих участников процессов формирования фетоплацентарного комплекса. Изменения в функционировании белкового продукта генов факторов роста может привести к нарушению нормального течения беременности.

АССОЦИАЦИЯ ФАКТОРОВ РОСТА С НАРУШЕНИЕМ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

TGFB и VEGF играют ключевую роль в регуляции имплантации и плацентации. TGFB1 индуцирует экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста [26, 27]. Показано, что TGFB1 и VEGFA активируют синтез и регулируют активность матриксных металлопротеиназ [37, 75]. Так как продукты генов взаимосвязаны в метаболических путях, изменение их функционирования может запускать процессы апоптоза, и, как следствие, нарушение функционирования синцитиотрофобласта, что может привести к недостаточной инвазии трофобласта и потере беременности. Баланс между процессами апоптоза и пролиферации имеют решающее значение для поддержания беременности, и нарушение их регуляции может привести к ее потере в первом триместре. Warner считал, что динамический баланс скоростей образования новых клеток и апоптоза является внутренним фактором выживания эмбрионов [76].

Трансформирующий фактор роста играет модулирующую роль в росте плода. Изучение беременных в первом триместре показало высокие уровни TGFB2 в периферической крови при беременности с внутриутробной задержкой развития [77]. У женщин со спонтанными абортами был выявлен дефицит TGFB в децидуальной оболочке [68]. В амниотической жидкости при преэклампсии показан высокий уровень TGFB1 [78]. Среди известных полиморфизмов гена *TGFB*, два SNP *869T>C* и *915G>C* в экзоне 1 приводят в результате к аминокислотным заменам в кодоне 10 (Leu-Pro) и кодоне 25 (Arg-Pro), соответственно, и связаны с повышенным уровнем белка гена *TGFB1* в сыворотке крови [79]. Полиморфизм *Arg25Pro* коррелирует с привычным невынашиванием среди женщин Туниса [80]. Нами не было выявлено ассоциации данного полиморфизма с невынашиванием беременности в первом триместре у женщин г. Ростова-на-Дону [81]. Linsingen с коллегами также не выявили ассоциации как *915G>C* полиморфизма гена *TGFB1*, так и *869T>C* полиморфизма с невынашиванием беременности у женщин бразильской популяции [82]. Amani с коллегами не было также получено значимых различий для женщин со спонтанными абортами южного Ирана по полиморфизмам *Arg25Pro*, *Leu10Pro* и *Thr263Ile* [83]. Однако TGFB1 рассматривается как один из основных регуляторов для мониторинга количества регуляторных Т-клеток, которые играют решающую роль в поддержании физиологических иммунных реакций и, кроме того, обеспечивают материнскую толерантность к отцовским антигенам плода. Поэтому его значимую роль в процессах поддержания беременности нельзя исключать.

Было показано, что у женщин с самопроизвольным выкидышем и/или с замершей беременностью в I триместре концентрация белка VEGF в сыворотке крови снижается в 2 раза по сравнению с нормальной беременностью. В гене *VEGFA* широко изучаемы 4 полиморфных сайта: *-2578C>A*, *-1154G>A*, *-634G>C*, *936C>T*. Частота аллеля *-1154A* у женщин с тремя и более самопроизвольными выкидышами в анамнезе достоверно выше, чем в группе контроля. Установлена также ассоциация полиморфизма *936C>T* гена *VEGF* с риском развития привычного невынашивания беременности. Так у пациенток с привычной потерей плода

генотипы *936CT* и *936TT* встречаются в 1,5 раза чаще, чем в норме [84]. Для *-634G>C* полиморфизма показана связь с повторной потерей беременности неясного генеза [85], полиморфизм усиливает экспрессию гена [86]. По данным других исследований ассоциация данного полиморфизма с потерей беременности в первом триместре отсутствует [87, 88]. Наша работа также показала отсутствие ассоциации *-634G>C* полиморфизма с невынашиванием беременности в первом триместре [81].

Sun с коллегами провели метаанализ статей по следующим SNP гена *VEGFA*: *-2578C>A*, *-460T>C*, *-1154G>A*, *-634G>C*, *398G>A*, *497G>A*, *-583T>C* и *936C>T*. Только для *-1154G>A* и *936C>T* была показана статистически значимая связь с повторной потерей беременности в I и II триместрах. Интересно отметить, что для *-1154G>A* была показана ассоциация для европеоидов, а для *936C>T* для восточных азиатов [88]. Yalcintere et al сравнили генотипы плода и матери. В результате этого исследования было выявлено: генотип *405GG*, *936TT*, *460CT* и *460TT* у плода увеличивают риск спонтанного прерывания беременности. Полиморфизм *VEGFA -2578C>A* не был признан фактором риска спонтанной потери беременности в этом исследовании [89]. Для мексиканских женщин не было выявлено ассоциации полиморфизмов *-2578C>A*, *-1154G>A*, *405G>C*, *-7C>T* гена *VEGFA* с преэклампсией [90]. Нами была выявлена статистически значимая связь полиморфизма *-2578C>A* с потерей беременности в I триместре [81]. Данный SNP расположен в промоторной области, аллель *-2578A* связывают с пониженным уровнем экспрессии гена. Низкий уровень белковых продуктов *VEGFA* приводит к недостаточному кровоснабжению фетоплацентарного комплекса. Однако рядом исследователей не найдено корреляции этого полиморфизма с повторной потерей беременности в первом триместре [85, 87, 88]. Данные противоречивы также и для других функциональных полиморфизмов гена *VEGFA -1154G>A*, *936C>T* [20, 85, 87, 88].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Факторы роста начинают секретироваться уже на стадии бластоцисты, подготавливая эмбрион и эндометрий к имплантации. Правильное моделирование сосудистых реакций приводит в дальнейшем к нормальной плацентации, кровоснабжению эмбриона, а также его росту и развитию. SNP генов факторов роста могут изменять активность генов и модификацию белкового продукта, что при воздействии определенных условий может приводить к патологическому течению беременности и даже ее прерыванию. Данные об ассоциации полиморфизмов генов факторов роста противоречивы, их влияние на механизмы регуляции клеточного цикла до конца не ясно, что свидетельствует об актуальности дальнейших исследований в этом направлении.

Список литературы

1. Казакова В. С. Использование факторов роста в восстановлении костной ткани (обзор) / В. С. Казакова, В. П. Чуев, О. О. Новиков [и др.] // Научные ведомости белгородского государственного университета. Серия: медицина. Фармация. – 2011. – Т. 13, вып. 99. – С. 5–12.

2. Бурлеев В. А. Факторы роста и их роль в регуляции репродуктивной функции у больных с синдромом поликистозных яичников / В. А. Бурлеев, А. С. Гаспаров, Н. С. Аванесян // Проблемы репродукции. – 1998. – Т. 3. – С. 17–25.
3. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor thirty-five years later / R. Levi-Montalcini // Science. – 1987. – Vol. 237. – P. 1154–1162.
4. Nachman R. L. Endothelium: from cellophane to orchestral maestro / R. L. Nachman // The Jour. of Clinical Investigation. – 2012. – Vol. 122, No 3. – P. 796–797.
5. Yorio T. Ocular Therapeutics: Eye on New Discoveries / T. Yorio, A. Clark, M. Wax. – Academic Press, 2010. – 88 p.
6. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев – СПб.: ООО «Издательство Фопизинг», 2008. – 552 с.
7. Белова О. В. Роль цитокинов в иммунологической функции кожи / В. О. Белова, В. Я. Арион, В. И. Сергиенко // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – Т. 1. – С. 41–55.
8. Федянин М. Ю. Перспективы терапевтического воздействия на сигнальный путь FGFR / М. Ю. Федянин, Д. Н. Хмелькова, Т. С. Серебрянская [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2015. – Т. 1. – С. 27–38.
9. Шурыгин М. Г. Основные активаторы ангиогенеза и их применение в кардиологии / М. Г. Шурыгин, Н. Н. Дремина, И. А. Шурыгина, И. Н. Мачхин // Бюллетень восточно-сибирского научного центра сибирского отделения российской академии медицинских наук. – 2005. – Т. 6. – С. 199–207.
10. Гугушвили Н. А. Клинико-патогенетическое обоснование тактики ведения беременности и родов при задержке роста плода / Н. А. Гугушвили // Дисс. на соискание ученой степени к. м. н. – М., 2014. – 175 с.
11. МакКонки Э. Геном человека / МакКонки Э. – М.: Техносфера, 2011. – 288 с.
12. Hoch R. V. Context-specific requirements for Fgfr1 signaling through Frs2 and Frs3 during mouse development / R. V. Hoch, P. Soriano // Development. – 2006. – Vol. 133. – P. 663–673.
13. Gatford K. L. Circulating IGF1 and IGF2 and SNP genotypes in men and pregnant and non-pregnant women / K. L. Gatford, G. K. Heinemann, S. D. Thompson [et al] // Endocr Connect. – 2014. – Vol. 3, No 3. – P. 138–49.
14. Moore G. E. The role and interaction of imprinted genes in human fetal growth / G. E. Moore, M. Ishida, C. Demetriou [et al] // Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. – 2015. – Vol. 370, No 1663. – P. 20140074.
15. Шушанов С. С. Роль инсулиноподобного фактора роста 1 типа (IGF-1) и некоторых других членов системы IGF/инсулин в прогрессии множественной миеломы / С. С. Шушанов // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, вып. 3. – С. 73–80.
16. Butt A. J. The IGF axis and programmed cell death / A. J. Butt, S. M. Firth, R. C. Baxter // Immunol. Cell. Biol. – 1999. – Vol. 77. – P. 256–262.
17. Asvold B. O. Maternal concentrations of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 1 during pregnancy and birth weight of offspring / B. O. Asvold, A. Eskild, P. A. Jenum, L. J. Vatten // Am J Epidemiol. – 2011. – Vol. 174, No 2. – P. 129–35.
18. Peng H. Y. Study on changes of IGF-I and leptin levels in serum and placental tissue of preeclampsia patients and their associativity / Peng H. Y., Xue M., Xia A. B. // Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. – 2011. – Vol. 27, No 2. – P. 192–194.
19. Мурашко А. В. Роль факторов роста в развитии плацентарной недостаточности и преэклампсии / А. В. Мурашко, Ш. М. Магомедова // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. – 2015. – Т. 3. – С. 25–28.
20. Lee D. C. Transforming growth factor alpha: expression, regulation, and biological activities / D. C. Lee, S. E. Fenton, E. A. Berkowitz, M. A. Hissong // Pharmacol Rev. – 1995. – Vol. 47. – P. 51–85.
21. Dreux A. C. The epidermal growth factor receptors and their family of ligands: their putative role in atherogenesis / A. C. Dreux, D. J. Lamb, H. Modjtahedi, G. A. Ferns // Atherosclerosis. – 2006. – Vol. 186, No 1. – P. 38–53.
22. Balaram P. Demonstration of TGF-alpha-EGFR and EGF-EGFR autocrine loops and their relation to proliferation in complete hydatidiform moles (CHM) / P. Balaram, M. John, S. Enose, P. K. Symaladevi // Int J Gynecol Cancer. – 2001. – Vol. 11, No 5. – P. 397–402.

23. Рудой А. С. Маленькая молекула и большая болезнь / А. С. Рудой, А. В. Москалев, В. Я. Апчел, О. П. Гумилевска // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2009. – Т. 3, вып. 27. – С. 166–172.
24. Yue J. Transforming growth factor- β signal transduction in epithelial cells / J. Yue, K. M. Mulder // Pharmacology and Therapeutics. – 2001. – Vol. 91, No 1. – P. 1–34.
25. Бабышкина Н. Н. Роль трансформирующего ростового фактора TGF- β 1 в патогенезе рака молочной железы / Н. Н. Бабышкина, Е. А. Малиновская, М. Н. Стахеева [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – Т. 6, Вып. 42. – С. 63–70.
26. Марченко Ж. С. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в патогенезе ревматоидного артрита / Ж. С. Марченко, Г. В. Лукина // Научно-практическая ревматология. – 2005. – Т. 1. – С. 57–60.
27. Poniatowski L. A. Transforming growth factor Beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications / L. A. Poniatowski, P. Wojdasiewicz, R. Gasik, D. Szukiewicz // Mediators Inflamm. – 2015. – Vol. 2015. – P. 137823.
28. Kisliouk T. Presence and Regulation of Endocrine Gland Vascular Endothelial Growth Factor / Prokineticin-1 and Its Receptors in Ovarian Cells / T. Kisliouk, N. Levy, A. Hurwitz, R. Meidan // J. Clin Endocrin. Metabol. – 2003. – Vol. 88, No 8. – P. 3700–3707.
29. Otrrock Z. K. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: review / Z. K. Otrrock, J. A. Makarem, A. I. Shamseddine // Blood Cells Mol. Dis. – 2007. – Vol. 38. – P. 258–268.
30. Sugimoto H. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induced proteinuria / H. Sugimoto, Y. Hamano, D. Charytan [et al] // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278. – P. 12 605–12 608.
31. Демченко Н. С. Патогенез невынашивания беременности: роль сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-A) (обзор литературы) / Н. С. Демченко, Н. В. Башмакова, Т. Б. Третьякова // Уральский медицинский журнал. – 2012. – Т. 11. – С. 1–6.
32. Pepper M. S. Lymphangiogenesis and tumor metastasis / M. S. Pepper, J. C. Tille, R. Nisato, M. Skobe // Cell Tissue Res. – 2003. – Vol. 314, No 1. – P. 167–177.
33. Герштейн Е. С. Фактор роста эндотелия сосудов и опухоли женской репродуктивной системы / Е. С. Герштейн, Д. Н. Кушлинский, И. В. Терешкина [и др.] // Часть I. Рак молочной железы. Онкогинекология. – 2015. – Т. 1. – С. 34–41.
34. Young R. J. Immunohistochemical Detection of Tumour Hypoxia / R. J. Young, A. Möller // Histology Protocols. – 2009. – Vol. 611. – P. 151–159.
35. Кузьмин А. Г. Анти-VEGF препараты для лечения диабетической ретинопатии / А. Г. Кузьмин, Д. В. Липатов, О. М. Смирнова, М. В. Шестакова // Офтальмохирургия. – 2009. – Т. 3. – С. 53–57.
36. Palei A. C. Matrix metalloproteinase MMP-9 genotypes and haplotypes in preeclampsia and gestational hypertension / A. C. Palei, V. C. Sandrim, G. Duarte [et al] // Clin Chim Acta. – 2010. – Vol. 411, No 11–12. – P. 874–877.
37. Luizon M. R. Epistasis among eNOS, MMP-9 and VEGF maternal genotypes in hypertensive disorders of pregnancy / M. R. Luizon, V. C. Sandrim, A. C. Palei [et al] // Hypertens Res. – 2012. – Vol. 35, No 9. – P. 917–921.
38. Назаренко М. С. Полиморфные варианты гена эндотелиальной синтазы оксида азота и риск невынашивания беременности / М. С. Назаренко, О. Ю. Боткина, В. П. Пузырев // Молекулярная медицина. – 2012. – Т. 4. – С. 1–4.
39. Блашквив Т. В. Влияние ингибиторов NO-синтаз на показатели эмбриональной гибели пре- и постимплантационных эмбрионов мышей / Т. В. Блашквив, Т. Ю. Вознесенская // Онтогенез. – 2004. – Т. 35, вып. 5. – С. 346–349.
40. Krause B. J. Role of nitric oxide in placental vascular development and function / B. J. Krause, M. A. Hanson, P. Casanello // Placenta. – 2011. – Vol. 32, No 11. – P. 797–805.
41. Cuevas P. Hypotensive activity of fibroblast growth factor / P. Cuevas, F. Carceller, S. Ortega [et al] // Science. – 1991. – Vol. 254. – P. 1208–1210.
42. Павлов К. А. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль сосудистого эндотелиального фактора роста / К. А. Павлов, Е. А. Дубова, А. И. Щеголев // Акушерство и гинекология. – 2011. – Т. 3. – С. 11–16.

43. Bais C. PIGF blockade does not inhibit angiogenesis during primary tumor growth / C. Bais, X. Wu, J. Yao [et al] // *Cell*. – 2010. – Vol. 141. – P. 166–177.
44. Козырева Е. В. Роль факторов роста в патогенезе бесплодия и невынашивания беременности / Е. В. Козырева, Л. Ю. Давидян // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20811> (дата обращения: 26.03.2018).
45. Макаренко М. В. Особенности содержания плацентарного фактора роста в динамике беременности при синдроме задержки развития плода / М. В. Макаренко // *Современная педиатрия*. – 2014. – Т. 4, вып. 60. – С. 43–45
46. O'Keefe F. J. Review: a model of cell cycle control: sequential events regulated by growth factors / F. J. O'Keefe, W. J. Pledger // *Mol Cell Endocrinol*. – 1983. – Vol. 31. – P. 167–74.
47. Zhang H. Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) inhibit breast cancer cell motility / H. Zhang, D. Yee // *Cancer Res*. – 2002. – Vol. 62. – P. 4369–4375.
48. Qiang Y. W. Insulin-like growth factor I induces migration and invasion of human multiple myeloma cells / Y. W. Qiang, L. Yao, G. Tosato, S. Rudikoff // *Blood*. – 2004. – Vol. 103, No 1. – P. 301–308.
49. Gwinn D. M. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint / D. M. Gwinn, D. B. Shackelford, D. F. Egan [et al] // *Mol Cell*. – 2008. – Vol. 30. – P. 214–26.
50. Appert-Collin A. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion / A. Appert-Collin, P. Hubert, G. Crémel, A. Bennisroune // *Front. Pharmacol*. – 2015. – Vol. 6. – P. 283–292.
51. Dengjel J. Receptor tyrosine kinase signaling: a view from quantitative proteomics / J. Dengjel, I. Kratchmarova, B. Blagoev // *Mol Biosyst*. – 2009. – Vol. 5, No 10. – P. 1112–1121.
52. Morandell S. Quantitative proteomics and phosphoproteomics reveal novel insights into complexity and dynamics of the EGFR signaling network / S. Morandell, T. Stasyk, S. Skvortsov [et al] // *Proteomics*. – 2008. – Vol. 8. – P. 4383–4440.
53. West M. J. Translational induction of the c-myc oncogene via activation of the FRAP/TOR signaling pathway / M. J. West, M. Stoneley, A. E. Willis // *Oncogene*. – 1998. – Vol. 17. – P. 769–80.
54. Kyriakis J. M. Making the connection: coupling of stress-activated ERK/MAPK (extracellular-signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase) core signaling modules to extracellular stimuli and biological responses / J. M. Kyriakis // *Biochem Soc Symp*. – 1998. – Vol. 64. – P. 29–48.
55. Koch S. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors / S. Koch, S. Tugues, X. Li [et al] // *Biochem J*. – 2011. – Vol. 437, No 2. – P. 169–83.
56. Morrish D. W. Transforming growth factor beta 1 inhibits placental differentiation and human chorionic gonadotropin and human placental lactogen secretion / D. W. Morrish, D. Bhardwaj, M. T. Paras // *Endocrinology*. – 1991. – Vol. 129. – P. 22–26.
57. Hocevar B. A. TGF- β induces fibronectin synthesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent Smad4-independent pathway / B. A. Hocevar, T. L. Brown, P. H. Howe // *EMBO J*. – 1999. – Vol. 18. – P. 1345–1356.
58. Chang H. Genetic Analysis of the Mammalian Transforming Growth Factor- β Superfamily / H. Chang, C. W. Brown, M. M. Matzuk // *Endocrine Reviews*. – 2002. – Vol. 23, No 6. – P. 787–823.
59. Cheng J. C. TGF- β 1 inhibits trophoblast cell invasion by inducing snail-mediated down-regulation of *vecadherin* / J. C. Cheng, H. M. Chang, P. Leung // *J Biol Chem*. – 2013. – Vol. 288. – P. 33181–33192.
60. Ferrari G. Transforming growth factor-beta 1 (tgf- β 1) induces angiogenesis through vascular endothelial growth factor (vegf)-mediated apoptosis/ G. Ferrari, B. D. Cook, V. Terushkin [et al] // *J Cell Physiol. Journal of Cellular Physiology*. – 2009. – Vol. 219, No 2. – P. 449–460.
61. Shalaby F. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice / F. Shalaby, J. Rossant, T. P. Yamaguchi [et al] // *Nature*. – 1995. – Vol. 376, No 6535. – P. 62–66.
62. Ruan G. X. VEGF-A engages at least three tyrosine kinases to activate PI3K/Akt / G. X. Ruan, A. Kazlauskas // *Cell Cycle*. – 2012. – Vol. 11, No 11. – P. 2047–2048.
63. Bush M. R. Evidence of yuxtacrine signaling for transforming growth factor- α in human endometrium / M. R. Bush, J. M. Mele, G. M. Couchman, D. K. Walmer // *Biol Reprod*. – 1998. – Vol. 59. – P. 1522–1529.
64. Бурлев В. А. Ангиогенез и ангиогенные факторы роста в регуляции репродуктивной системы у женщин / В. А. Бурлев, С. В. Павлович // *Проблемы репродукции*. – 1999. – Т. 5. – С. 6–14.
65. Сидельникова В. М. Актуальные проблемы невынашивания. Руководство для практических врачей / В. М. Сидельникова, Г. Т. Сухих – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 534 с.

66. Rutanen E. M. mRNA expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) is suppressed and those of IGF-II and IGF-binding protein-1 are constantly expressed in the endometrium during use of an intrauterine levonorgestrel system / E. M. Rutanen, A. Salmi, T. Nyman // *Mol Hum Reprod.* – 1997. – Vol. 3. – P. 749–754.
67. Pereira R. D. Angiogenesis in the Placenta: The Role of Reactive Oxygen Species Signaling / R. D. Pereira, N. E. De Long, R. C. Wang [et al] // *BioMed Research International.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 814543.
68. Schumacher A. Human Chorionic Gonadotropin Attracts Regulatory T Cells into the Fetal-Maternal Interface during Early Human Pregnancy / A. Schumacher, N. Brachwitz, S. Sohr [et al] // *Journal of Immunology.* – 2009. – Vol. 182. – P. 5488–5497.
69. Su M-T. Genetic association studies of angiogenesis- and vasoconstriction- related genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis / M-T. Su, S-H. Lin, Y-C. Chen // *Human Reproduction Update.* – 2011. – Vol. 17, No 6. – P. 803–812.
70. Hung T.-H. A longitudinal study of oxidative stress and antioxidant status in women with uncomplicated pregnancies throughout gestation / T.-H. Hung, L.-M. Lo, T.-H. Chiu [et al] // *Reproductive Sciences.* – 2010. – Vol. 17, No 4. – P. 401–409.
71. Bassi R. Study of changes in lipid profile, lipid peroxidation and superoxide dismutase during normal pregnancy / R. Bassi, M. Kaur, S. Sharma // *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences.* – 2011. – Vol. 1. – P. 249–254.
72. Крукиер И. И. Факторы роста в развивающейся плаценте / И. И. Крукиер // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки.* – 2003. – Т. 4. – С. 57–60.
73. Ульянина Е. В. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в прогнозе сосудистых нарушений у беременных с синдромом задержки развития плода / Е. В. Ульянина, И. Ф. Фаткуллин // *Казанский медицинский журнал.* – 2015. – Т. 96, вып. 2. – С. 220–223.
74. Myatt L. Oxidative stress in the placenta / L. Myatt, X. Cui // *Histochemistry and Cell Biology.* – 2004. – Vol. 122, No. 4. – P. 369–382.
75. Bhupinder S. S. Matrix metalloproteinases – an overview / S. S. Bhupinder // *Research and Reports in Biology.* – 2010. – Vol. 1. – P. 1–20.
76. Warner C. M. Genetic regulation of egg and embryo survival / C. M. Warner, W. Cao, G. E. Exley [et al] // *Human Reproduction.* – 1998. – Vol. 13, No 3. – P. 178–196.
77. Кудряшова А. В. Роль иммунной системы в формировании задержки внутриутробного развития плода: автореф. дисс. д. б. н. / А. В. Кудряшова – М., 2006. – 48 с.
78. Singh M. Changes in maternal serum transforming growth factor beta-1 during pregnancy: a cross-sectional study / M. Singh, N. C. Orazulike, J. Ashmore, J. C. Konje // *BioMed Research International.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 318464.
79. Kim S. Y. Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphisms in Korean patients with pre-eclampsia / S. Y. Kim, J. H. Lim, S. Y. Park [et al] // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 2010. – Vol. 63, No 4. – P. 291–298.
80. Magdoud K. Genetic variation in TGFB1 gene and risk of idiopathic recurrent pregnancy loss / K. Magdoud, V. Granados Herbein, S. Messaoudi [et al] // *Mol Hum Reprod.* – 2013. – Vol. 19, No 7. – P. 438–43.
81. Мараховская Т. А. Ассоциация VEGFA -2578C>A с невынашиванием беременности в I триместре / Т. А. Мараховская, Е. В. Машкина // *Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции. Материалы научно-практической конференции с международным участием. Ростов-на-Дону, Издательство Южного федерального университета.* – 2017. – С. 138–139.
82. Von Linsingen R. Case-Control Study in IL6 and TGFB1 Gene Polymorphisms and Recurrent Spontaneous Abortion in Southern Brazilian Patients / R. von Linsingen, E. P. Bompeixe, M. A. da Graca Bicalho // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 2005. – Vol. 53, No 2. – P. 94–9.
83. Amani D. Lack of association between the TGF-beta1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion / D. Amani, A. S. Dehaghani, J. Zolghadri [et al] // *J Reprod Immunol.* – 2005. – Vol. 68, No 1–2. – P. 91–103.
84. Орлов А. В. Роль факторов роста в патогенезе неразвивающейся беременности / А. В. Орлов, И. И. Крукиер, Н. А. Друккер, Л. В. Каушанская // *Российский вестник акушера-гинеколога.* – 2005. – № 3. – С. 4–6.

85. Eller A. G. Vascular endothelial growth factor-A gene polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss / A. G. Eller, D. W. Branch, L. Nelson [et al] // *Journal of Reproductive Immunology*. – 2011. – Vol. 88, No 1. – P. 48–52.
86. Sa-Nguanraksa D. Vascular endothelial growth factor -634G/C polymorphism is associated with increased breast cancer risk and aggressiveness / D. Sa-Nguanraksa, T. Chuangsuwanich, T. Pongpruttipan [et al] // *Mol Med Rep*. – 2013. – Vol. 8, No 4. – P. 1242–1250.
87. Papazoglou D. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss / D. Papazoglou, G. Galazios, K. Papatheodorou [et al] // *Fertil. Steril*. – 2005. – Vol. 83, No 4. – P. 959–963.
88. Sun Y. Association between vascular endothelial growth factor polymorphism and recurrent pregnancy loss: A systematic review and meta-analysis / Y. Sun, M. Chen, B. Mao [et al] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2017. – Vol. 211. – P. 169–176.
89. Yalcintepe S. A. Fetal Vegf Genotype is More Important for Abortion Risk than Mother Genotype. / Yalcintepe S. A., Silan F., Hacivelioglu S. O., Uludag A., Cosar E., Ozdemir O. // *Int J Mol Cell Med*. – 2014 – 3(2) – P. 88–94.
90. Garza-Veloz I. No association between polymorphisms/haplotypes of the vascular endothelial growth factor gene and preeclampsia / I. Garza-Veloz, C. Castruita-De la Rosa, R. Cortes-Flores [et al] // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2011. – Vol. 11. – P. 35.

ROLE OF GROWTH FACTORS IN MISCARRIAGE

Marakhovskaya T. A.

*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia
E-mail: tmarakhovskaya@mail.ru*

This review is dedicated to the growth factors role in pregnancy. The growth factors molecular-genetic characteristics, their participation in proliferation and angiogenesis, and their role in implantation and placentation are considered.

Ketlinsky S. A. and Simbirtsev A. S. have identified the following families in the growth factors classification: hematopoietic growth factors family, interleukin 1 and fibroblast growth factor family, nerve growth factors superfamily, platelet growth factor and transforming growth factors family, epidermal growth factor family, insulin-like growth factors family. The molecular genetic characteristics some of this family are considered in detail.

The attention to growth factors role in cell division is given. The PI3K/Akt pathway activated by EGF-EGFR complex leads to transcription of c-Myc and cyclin D1, which promote cell growth and proliferation. The IGF activates pathways leading to the stimulation of proliferation and cell motility by binding to IGF1R subunits. They involve mitogen-activated protein kinase, through the sequential Ras, Raf, MEK and ERK activation. This increase cyclin D expression and promotes the passage through the restriction site. MAPK signaling through performs the same TGFB, VEGF. The phosphatidylinositol-3-kinase pathway mediated by the interaction PI3-K, PDK, Akt kinases also leads to successful cell division. The TGFB inhibits both cyclin D-Cdk4/6 complexes and cyclin E/Cdk2 activities. The TGFB signals suppression leads to increased activity of cyclin E-CDK2, and then to increasing of cyclin E levels. The VEGFA protects

endothelial cells from apoptosis through the activation of p38MAPK without the involvement of TGFB1.

The presence of TGFA and intracellular domain to EGF receptor at the 4 blastomeres stage is shown. Intra- and extracellular domains to EGF, IGF1 and IGF1R receptor at the 8- and 14-cell stage are found. At the first week of pregnancy the cytotrophoblast cells intensively express chorionic gonadotropin, which positively influences on angiogenesis and VEGF expression. The maximum values of TGFB, EGF, FGF and IGF levels are observed in placenta by the end of first trimester. It coincides with the abrupt increasing of oxidative stress. The fetal capillary layer is expanded by branching from 9th to 23rd week of pregnancy approximately. This period is characterized by high VEGF expression and moderate PGF expression. The abrupt decreasing of the VEGF concentration is detected from the 25th week until the end of pregnancy.

The changing of growth factors gene expression influence to the work of their proteins and to the violation of proliferation and apoptosis. It can lead to disruption of implantation and placentation. Disturbances of providing of embryo's blood supply may result in miscarriage in first trimester. The balance between the processes of apoptosis and proliferation is crucial for pregnancy maintaining, and the violation of their regulation can lead to miscarriage. Growth factors contribute to the pregnancy development and progression at all its stages. They are ones of the fundamental participants in the fetoplacental complex formation. The genes products are interrelated in the metabolic pathways. The changing in their functioning can trigger an apoptosis processes and, as a consequence, a disruption of the syncytiotrophoblast functioning, which can lead to insufficient trophoblast invasion and pregnancy loss.

TGFB and VEGF play a key role in the implantation and placentation. The TGFB1 is considered as one of main regulators for quantity regulation of regulatory T cells that play a crucial role in maintaining physiological immune responses and, in addition, provide maternal tolerance to fetal paternal antigens. Among known *TGFB* gene polymorphisms, two SNPs (*869T>C* and *915G>C*) in exon 1 result in amino acid substitutions in codon 10 (Leu-Pro) and codon 25 (Arg-Pro), respectively. They are associated with increased level of TGFB in serum. The *-2578C>A VEGFA* polymorphism is located in the promoter region. The *-2578A* allele is associated with the reduced level of gene expression. The low level of VEGFA protein products results to the insufficient blood supply in the fetoplacental complex. The connection of growth factors genes single nucleotide polymorphisms and their expression with a pregnancy loss is shown on the basis of domestic and foreign studies and own data analysis. Data on the association of growth factors genes polymorphisms with pregnancy loss are contradictory, their influence on the cell cycle regulation mechanisms is not completely clear. This shows the importance of further researches in this area.

Keywords: growth factor genes, angiogenesis, apoptosis, miscarriage, fetoplacental complex, gene polymorphism.

References

1. Kazakova V. S., Chuyev V. P., Novikov O. O., Zhilyakova E. T. and Fadeeva D. A. Using of growth factors in the bone tissue restoration (review), *Nauchnye vedomosti belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seria: medicina. Farmaciya*, **13 (99)**, 5 (2011).
2. Burleev V. A., Gasparov A. S. and Avanesyan N. S., Growth factors and their role in the reproductive function regulation in patients with polycystic ovary syndrome, *Problemy reprodukcii*, **3,17** (1998).
3. Levi-Montalcini R., The nerve growth factor thirty-five years later, *Science*, **237**, 1154 (1987).
4. Nachman R. L., Endothelium: from cellophane to orchestral maestro, *The Jour. of Clinical Investigation*, **122 (3)**, 796 (2012).
5. Yorio T., Clark A. and Wax M., *Ocular Therapeutics: Eye on New Discoveries*, 88 (Academic Press, 2010).
6. Ketlinsky S. A and Simbirtsev A. S., *Cytokines*, 552 (OOO «Izdatelstvo Fopiig», St. Petersburg, 2008).
7. Belova O. V., Arion V. Ya. and Sergienko V. I., The role of cytokines in the immunological function of the skin, *Immunopathology, allergology, infectology*, **1**, 41 (2008).
8. Fedyanin M. Yu., Khmelkova D. N., Serebriyska T. S., Nikolskaya T. A. and Tyulyandin S. A., Prospects of therapeutic effect on the signaling pathway FGFR, *Advances in molecular oncology*, **1**, 27 (2015).
9. Shurygin M. G., Dremina N. N., Shurygina I. A. and Machkhin I. N., The main activators of angiogenesis and their application in cardiology, *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, **6**, 199 (2005).
10. Gugushvili N. A., *Clinico-pathogenetic justification of the conducting pregnancy and childbirth with delayed fetal growth tactics*, 175 (Thesis for phd, Moscow, 2014).
11. McConchi E., *The human genome*, 288 (Technosphere, Moscow, 2011).
12. Hoch R. V. and Soriano P., Context-specific requirements for Fgfr1 signaling through Frs2 and Frs3 during mouse development, *Development*, **133**, 663 (2006).
13. Gatford K. L., Heinemann G. K., Thompson S. D., Zhang J. V., Buckberry S., Owens J. A., Dekker G. A. and Roberts C. T., Circulating IGF1 and IGF2 and SNP genotypes in men and pregnant and non-pregnant women, *Endocr Connect*, **3**, 3,138 (2014).
14. Moore G. E., Ishida M., Demetriou C., Al-Olabi L., Leon L. J., Thomas A. C., Abu-Amero S., Frost J. M., Stafford J. L., Chaoqun Y., Duncan A. J., Baigel R., Brimioulle M., Iglesias-Platas I., Apostolidou S., Aggarwal R., Whittaker J. C., Syngelaki A., Nicolaides K. H., Regan L., Monk D. and Stanier P., The role and interaction of imprinted genes in human fetal growth, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, **370**, 1663 (2015).
15. Shushanov S. S., The role of insulin-like growth factor 1 type (IGF-1) and some other members of the IGF / insulin system in the progression of multiple myeloma, *Russian Biotherapeutic Journal*, **11, 3**, 73 (2012).
16. Butt A. J., Firth S. M. and Baxter R. C., The IGF axis and programmed cell death, *Immunol, Cell. Biol*, **77**, 256 (1999).
17. Asvold B. O., Eskild A., Jenum P. A. and Vatten L. J., Maternal concentrations of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 1 during pregnancy and birth weight of offspring, *Am J Epidemiol*, **174**, 2,129 (2011).
18. Peng H. Y., Xue M. and Xia A. B., Study on changes of IGF-I and leptin levels in serum and placental tissue of preeclampsia patients and their associativity, *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, **27, 2**, 192 (2011).
19. Murashko A. V. and Magomedova Sh. M., The role of growth factors in the development of placental insufficiency and preeclampsia, *Archive of Obstetrics and Gynecology im. VF Snegireva*, **3**, 25 (2015).
20. Lee D. C., Fenton S. E., Berkowitz E. A. and Hissong M. A., Transforming growth factor alpha: expression, regulation, and biological activities, *Pharmacol Rev*, **47**, 51 (1995).
21. Dreux A. C., Lamb D. J., Modjtahedi H. and Ferns G. A., The epidermal growth factor receptors and their family of ligands: their putative role in atherogenesis, *Atherosclerosis*, **186**, **1**, 38 (2006).
22. Balaram P., John M., Enose S. and Simaladevi P. K., Demonstration of TGF-alpha-EGFR and EGF-EGFR autocrine loops and their relation to proliferation in complete hydatidiform moles (CHM), *Int J Gynecol Cancer*, **11**, **5**, 397 (2001).

23. Rudoy A. S., Moskalev A. V., Apchel V. Ya. and Gumilevska O. P., A small molecule and a big disease, *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, **3**, **27**, 166 (2009).
24. Yue J. and Mulder K. M., Transforming growth factor- β signal transduction in epithelial cells, *Pharmacology and Therapeutics*, **91**, **1**, 1 (2001).
25. Babyshkina N. N., Malinovskaya E. A., Staheeva M. N., Volkomorov V. V., Ufandeev A. A. and Slonimskaya E. M., The role of the transforming growth factor TGF- β 1 in the pathogenesis of breast cancer, *Siberian oncology journal*, **6**, **42**, 63 (2010).
26. Marchenko Zh. S. and Lukina G. V., The role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis, *Scientific and practical rheumatology*, **1**, 57 (2005).
27. Poniatowski Ł. A., Wojdasiewicz P., Gasik R. and Szukiewicz D., Transforming growth factor Beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications, *Mediators Inflamm*, **2015**, 137823 (2015).
28. Kisliouk T., Levy N., Hurwitz A. and Meidan R., Presence and Regulation of Endocrine Gland Vascular Endothelial Growth Factor, Prokineticin-1 and Its Receptors in Ovarian Cells, *J. Clin Endocrin. Metabol*, **88**, **8**, 3700 (2003).
29. Otrock Z. K., Makarem J. A. and Shamseddine A. I., Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: review, *Blood Cells Mol. Dis*, **38**, 258 (2007).
30. Sugimoto H., Hamano Y., Charytan D., Kieran M., Sudhakar A., Kalluri R., Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induced proteinuria, *J. Biol. Chem*, **278**, 12 605 (2003).
31. Demchenko N. S., Bashmakova N. V., Tretyakova T. B., Pathogenesis of miscarriage: the role of vascular endothelial growth factor (VEGF-A) (literature review), *The Urals Medical Journal*, **11**, 1 (2012).
32. Pepper M. S., Tille J. C., Nisato R. and Skobe M., Lymphangiogenesis and tumor metastasis., *Cell Tissue Res*, **314**, **1**, 167 (2003).
33. Gershtein E. S., Kushlinsky D. N., Tereshkina I. V., Ermilova V. D., Ovchinnikova L. K., Galdava D. E. and Kuznetsova O. V., Vascular endothelium growth factor and female reproductive system tumor, Part I. Breast cancer. *Oncogynecology*, **1**, 34 (2015).
34. Young R. J. and Möller A., Immunohistochemical Detection of Tumour Hypoxia, *Histology Protocols*, **611**, 151 (2009).
35. Kuzmin A. G., Lipatov D. V., Smirnova O. M. and Shestakova M. V., Anti-VEGF drugs for the diabetic retinopathy treatment, *Ophthalmic surgery*, **3**, 53 (2009).
36. Palei A. C., Sandrim V. C., Duarte G., Cavalli R. C., Gerlach R. F. and Tanus-Santos J. E., Matrix metalloproteinase MMP-9 genotypes and haplotypes in preeclampsia and gestational hypertension, *Clin Chim Acta*, **411**, **11-12**, 874 (2010).
37. Luizon M. R., Sandrim V. C., Palei A. C., Lacchini R., Cavalli R. C., Duarte G. and Tanus-Santos J. E., Epistasis among eNOS, MMP-9 and VEGF maternal genotypes in hypertensive disorders of pregnancy, *Hypertens Res*, **35**, **9**, 917 (2012).
38. Nazarenko M. S., Botkin O. Yu. and Puzyrev V. P., Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphic variants and the miscarriage risk, *Molecular medicine*, **4**, 1 (2012).
39. Blashkiv T. V. and Voznesenskaya T. Yu., Effect of NO-synthase inhibitors on embryonic death of pre- and postimplantation mice embryos, *Ontogenesis*, **35**, **5**, 3 (2004).
40. Krause B. J., Hanson M. A. and Casanella P., Role of nitric oxide in placental vascular development and function, *Placenta*, **32**, **11**, 797 (2011).
41. Cuevas P., Carceller F., Ortega S., Zazo M., Nieto I. and Giménez-Gallego G., Hypotensive activity of fibroblast growth factor, *Science*, **254**, 1208 (1991).
42. Pavlov K. A., Dubova E. A. and Schegolev A. I., Fetoplacental angiogenesis in normal pregnancy: the vascular endothelial growth factor role, *Obstetrics and gynecology*, **3**, 11 (2011).
43. Bais C., Wu X., Yao J., Yang S., Crawford Y., McCutcheon K., Tan C., Kolumam G., Vernes J.-M., Eastham-Anderson J., Haughney P., Kowanetz M., Hagenbeek T., Kasman I., Reslan H. B., Ross J., Van Bruggen N., Carano R. A., Meng Y. J., Hongo J. A., Stephan J. P., Shibuya M. and Ferrara N., PIGF blockade does not inhibit angiogenesis during primary tumor growth, *Cell*, **141**, 166 (2010).
44. Kozyreva E. V. and Davidyan L. Yu., The growth factors role in infertility and miscarriage. *Modern problems of science and education*, **4** (2015).

45. Makarenko M. V., The placental growth factor features in the dynamics of pregnancy with fetal development retardation syndrome, *Modern pediatrics*, **4**, **60**, 43 (2014).
46. O' Keefe F. J. and Pledger W. J., Review: a model of cell cycle control: sequential events regulated by growth factors, *Mol Cell Endocrinol*, **31**, 167 (1983).
47. Zhang H. and Yee D., Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) inhibit breast cancer cell motility, *Cancer Res*, **62**, 4369 (2002).
48. Qiang Y. W., Yao L., Tosato G. and Rudikoff S., Insulin-like growth factor I induces migration and invasion of human multiple myeloma cells, *Blood*, **103**, **1**, 301 (2004).
49. Gwinn D. M., Shackelford D. B., Egan D. F., Mihaylova M. M., Mery A., Vasquez D. S., Turk B. E. and Shaw R. J., AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint, *Mol Cell*, **30**, 214 (2008).
50. Appert-Collin A., Hubert P., Crémel G. and Bennisroune A., Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion, *Front. Pharmacol*, **6**, 283 (2015).
51. Dengjel J., Kratchmarova I. and Blagoev B., Receptor tyrosine kinase signaling: a view from quantitative proteomics, *Mol Biosyst*, **5**, **10**, 1112 (2009).
52. Morandell S., Stasyk T., Skvortsov S., Ascher S. and Huber L. A., Quantitative proteomics and phosphoproteomics reveal novel insights into complexity and dynamics of the EGFR signaling network, *Proteomics*, **8**, 4383 (2008).
53. West M. J., Stoneley M. and Willis A. E., Translational induction of the c-myc oncogene via activation of the FRAP/TOR signaling pathway, *Oncogene*, **17**, 769 (1998).
54. Kyriakis J. M., Making the connection: coupling of stress-activated ERK/MAPK (extracellular-signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase) core signaling modules to extracellular stimuli and biological responses. *Biochem Soc Symp*, **64**, 29 (1998).
55. Koch S., Tugues S., Li X., Gualandi L. and Claesson-Welsh L., Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem J*, **437**, **2**, 169 (2011).
56. Morrish D. W., Bhardwaj D. and Paras M. T., Transforming growth factor beta 1 inhibits placental differentiation and human chorionic gonadotropin and human placental lactogen secretion, *Endocrinology*, **129**, 22 (1991).
57. Hocevar B. A., Brown T. L. and Howe P. H., TGF- β induces fibronectin synthesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent Smad4-independent pathway, *EMBO J*, **18**, 1345 (1999).
58. Chang H., Brown C. W. and Matzuk M. M., Genetic Analysis of the Mammalian Transforming Growth Factor- β Superfamily, *Endocrine Reviews*, **23**, **6**, 787 (2002).
59. Cheng J. C., Chang H. M. and Leung P., TGF- β 1 inhibits trophoblast cell invasion by inducing snail-mediated down-regulation of vecadherin, *J Biol Chem*, **288**, 33181 (2013).
60. Ferrari G., Cook B. D., Terushkin V., Pintucci G. and Mignatti P., Transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) induces angiogenesis through vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated apoptosis. *J Cell Physiol Journal of Cellular Physiology*, **219**, **2**, 449 (2009).
61. Shalaby F., Rossant J., Yamaguchi T. P., Gertsenstein M., Wu X. F., Breitman M. L. and Schuh A. C., Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature*, **376**, **6535**, 62 (1995).
62. Ruan G. X. and Kazlauskas A., VEGF-A engages at least three tyrosine kinases to activate PI3K/Akt, *Cell Cycle*, **11**, **11**, 2047 (2012).
63. Bush M. R., Mele J. M., Couchman G. M. and Walmer D. K., Evidence of yuxtacrine signaling for transforming growth factor- α in human endometrium, *Biol Reprod*, **59**, 1522 (1998).
64. Burlev V. A. and Pavlovich S. V., Angiogenesis and angiogenic growth factors in the women reproductive system regulation, *Reproduction problems*, **5**, 6 (1999).
65. Sidelnikova V. M. and Sukhikh G. T., *Actual problems of miscarriages. Manual for practical doctors*, 534 (Publisher Medical News Agency, Moscow, 2010).
66. Rutanen E. M., Salmi A. and Nyman T., MRNA expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) is suppressed and those of IGF-II and IGF-binding protein-1 are constantly expressed in the endometrium during use of an intrauterine levonorgestrel system, *Mol Hum Reprod*, **3**, 749 (1997).
67. Pereira R. D., De Long N. E., Wang R. C., Yazdi F. T., Holloway A. C. and Raha S., Angiogenesis in the Placenta: The Role of Reactive Oxygen Species Signaling, *BioMed Research International*, **2015**, 814543 (2015).

68. Schumacher A., Brachwitz N., Sohr S., Engeland K., Langwisch S., Dolaptchieva M., Alexander T., Taran A., Malfertheiner S. F., Costa S., Zimmermann G., Nitschke C., Volk H., Alexander H., Gunzer M. and Zenclussen A. C., Human Chorionic Gonadotropin Attracts Regulatory T Cells into the Fetal-Maternal Interface during Early Human Pregnancy, *Journal of Immunology*, **182**, 5488 (2009).
69. Su M-T., Lin S-H. and Chen Y-C., Genetic association studies of angiogenesis- and vasoconstriction-related genes in women with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis, *Human Reproduction Update*, **17**, 6, 803 (2011).
70. Hung T.-H., Lo L.-M., Chiu T.-H., Li M. J., Yeh Y. L., Chen S. F. and Hsieh T. T., A Longitudinal study of oxidative stress and antioxidant status in women with uncomplicated pregnancies throughout gestation. *Reproductive Sciences*, **17**, 4, 401 (2010)
71. Bassi R., Kaur M. and Sharma S., Study of changes in lipid profile, lipid peroxidation and superoxide dismutase during normal pregnancy, *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, **1**, 249 (2011).
72. Krukier I. I., Growth factors in the developing placenta, Higher educational institutions news. North-Caucasian region. *Natural Sciences*, **4**, 57 (2003).
73. Ulyanina E. V. and Fatkullin I. F., The role of vascular endothelial growth factor in the vascular disorders prognosis in pregnant women with fetal development retardation syndrome, *Kazan Medical Journal*, **96**, 2, 220 (2015).
74. Myatt L. and Cui X., Oxidative stress in the placenta, *Histochemistry and Cell Biology*, **122**, 4, 369 (2004).
75. Bhupinder S. S., Matrix metalloproteinases – an overview, *Research and Reports in Biology*, **1**, 1 (2010).
76. Warner C. M., Cao W., Exley G. E., McElhinny A. S., Alikani M., Cohen J., Scott R. T. and Brenner C. A., Genetic regulation of egg and embryo survival, *Human Reproduction*, **13**, 3, 178 (1998).
77. Kudryashova A. V., *The role of the immune system in the fetus intrauterine growth retardation formation*, 48 (Avtoreferat dissertacii Ph.D, Moscow, 2006).
78. Singh M., Orazulike N. C., Ashmore J. and Konje J. C., Changes in maternal serum transforming growth factor beta-1 during pregnancy: a cross-sectional study, *BioMed Research International*, **2013**, 318464 (2013).
79. Kim S. Y., Lim J. H., Park S. Y., Yang J. H., Kim M. Y., Kim M. H. and Ryu H. M., Transforming growth factor-beta 1 gene polymorphisms in Korean patients with pre-eclampsia, *American Journal of Reproductive Immunology*, **63**, 4, 291 (2010).
80. Magdoud K., Granados Herbepin V., Messaoudi S., Hizem S., Bouafia N., Almawi W. Y., Mahjoub T. and Touraine R., Genetic variation in TGFB1 gene and risk of idiopathic recurrent pregnancy loss, *Mol Hum Reprod*, **19**, 7, 438 (2013).
81. Marakhovskaya T. A. and Mashkina E. V., VEGFA-2578C> A association with miscarriage in the I trimester, Abstracts of International Conference «Genetics is the fundamental basis in medicine and breeding», 138 p. (Southern Federal University Publishing House, Rostov-on-Don, 2017).
82. von Linsingen R., Bompeix E. P. and da Graca Bicalho M., A Case–Control Study in IL6 and TGFB1 Gene Polymorphisms and Recurrent Spontaneous Abortion in Southern Brazilian Patients, *American Journal of Reproductive Immunology*, **53**, 2, 94 (2005).
83. Amani D., Dehaghani A. S., Zolghadri J., Ravangard F., Niikawa N., Yoshiura K. and Ghaderi A., Lack of association between the TGF-beta1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion, *J Reprod Immunol*, **68**, 1-2, 91 (2005).
84. Orlov A. V., Krukier I. I., Druker N. A. and Kaushanskaya L. V., The role of growth factors in the pathogenesis of an undeveloped pregnancy, *Russian bulletin of an obstetrician-gynecologist*, **3**, 4 (2005).
85. Eller A. G., Branch D. W., Nelson L., Porter T. F. and Silver R. M., Vascular endothelial growth factor-A gene polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss, *Journal of Reproductive Immunology*, **88**, 1, 48 (2011).
86. Sa-Nguanraksa D., Chuangsuwanich T., Pongpruttipan T., Kummalue T., Rojananin S., Ratanawichitrasin A., Prasartong-Osoth P., Chuthaisith S., Pisarturakit P., Aemrithaicharoenchok W., Rushatamukayanunt P., Lohsiriwat V., Boonsripitayanon M., Malasit P. and O-Charoenrat P., Vascular endothelial growth factor -634G/C polymorphism is associated with increased breast cancer risk and aggressiveness, *Mol Med Rep*, **8**, 4, 1242 (2013).

87. Papazoglou D., Galazios G., Papatheodorou K., Liberis V., Papanas N., Maltezos E. and Maroulis G. B., Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss, *Fertil. Steril.*, **83**, **4**, 959 (2005).
88. Sun Y., Chen M., Mao B., Cheng X., Zhang X. and Xu C., Association between vascular endothelial growth factor polymorphism and recurrent pregnancy loss: A systematic review and meta-analysis, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*, **211**, 169 (2017).
89. Yalcintepe S. A., Silan F., Hacivelioglu S. O., Uludag A., Cosar E. and Ozdemir O., Fetal Vegf Genotype is More Important for Abortion Risk than Mother Genotype, *Int J Mol Cell Med.*, **3**, **2**, 88 (2014).
90. Garza-Veloz I., Castruita-De la Rosa C., Cortes-Flores R., Martinez-Gaytan V., Rivera-Muñoz J. E., Garcia-Mayorga E. A., Meza-Lamas E., Rojas-Martinez A., Ortiz-Lopez R. and Martinez-Fierro M. L., No association between polymorphisms/haplotypes of the vascular endothelial growth factor gene and preeclampsia, *BMC Pregnancy Childbirth.*, **11**, 35 (2011).

УДК 582.263:581.1

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК
DUNALIELLA VIRIDIS TEOD. В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ ПРИ
НЕПРЕРЫВНОМ ОСВЕЩЕНИИ И СВЕТО-ТЕМНОВЫХ ЦИКЛАХ**

Меметшаева О. А., Боровков А. Б.

*ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Республика Крым, Россия
E-mail: olga.memetshaeva@mail.ru*

Приведены данные по исследованию влияния фотопериода на репродуктивную активность и морфометрические характеристики роста *Dunaliella viridis* Teod. при накопительном культивировании в условиях непрерывного освещения и свето-темновых циклов. Установлено, что средний размер микроводорослей, находящихся в репродуктивной фазе, в 1,2 раза больше по сравнению с клетками, находящимися в вегетативном состоянии. Показано, что максимальная доля делящихся клеток на линейном участке составила 25 % при непрерывном освещении и 35 % при свето-темновом режиме. Установлено, что к окончанию экспоненциальной фазы роста средние размеры *D. viridis* в высоту и в ширину уменьшались в 1,2 раза, а по окончании линейной фазы роста клетки приобрели вытянутую форму в двух вариантах эксперимента.

Ключевые слова: *Dunaliella viridis*, плотность; численность, высота и ширина клеток, деление, накопительная культура, непрерывное освещение, свето-темновой режим.

ВВЕДЕНИЕ

Dunaliella относятся к классу *Chlorophyceae* и являются источником целого ряда уникальных биологически активных веществ. Они представляют практический интерес как продуценты β-каротина, белков, липидов и витаминов, а также как объект изучения механизмов осморегуляции, солеустойчивости и морозоустойчивости [1–5]. Их биомасса используется в качестве пищевых добавок [6].

Dunaliella viridis Teod. – широко распространенный, легко культивируемый вид, обитающий в морях и соленых озерах. Размеры микроводоросли составляют 9–12 x 6–12 мкм [7]. Клетки монадной структуры, эллипсоидной, яйцевидной или грушевидной формы, с двумя жгутиками на апикальном конце. Для *Dunaliella* характерны вегетативный, бесполой и половой тип размножения, первый является преобладающим, происходит преимущественно в темноте путем поперечного деления [8, 9]. Отсутствие целлюлозной и пектиновой оболочки и наличие тонкой бесцветной протоплазматической мембраны позволяют рассмотреть органеллы клетки при цитокинезе, что делает микроводоросль хорошим объектом для исследования.

Морфопараметры клеток меняются на протяжении жизненного цикла микроводорослей и зависят от различных условий окружающей среды. В литературе рядом авторов отмечено, что фотопериод оказывает значительное влияние на форму и размер клеток, скорость роста и физиологическое состояние культуры, а изменение морфометрических параметров является следствием приспособления культуры к внешним условиям [10–13]. Поэтому исследование морфофизиологических свойств популяции *Dunaliella viridis* является необходимым для понимания процессов приспособленности одноклеточных организмов к условиям фотопериодизма.

В связи с этим целью данной работы являлось исследование влияния фотопериода на репродуктивную активность и морфометрические характеристики роста *Dunaliella viridis* Teod. при накопительном культивировании в условиях непрерывного освещения и свето-темновых циклов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали альгологически чистую культуру водоросли *Dunaliella viridis* var. *palmelloides* Teod. – штамм IMBR-5 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН».

Культивирование осуществляли в накопительном режиме на питательной среде Тренкеншу [14]. Выращивание микроводорослей проводили на лабораторной установке для культивирования низших автотрофов [15] в стеклянных фитобиореакторах плоскопараллельного типа объемом 3 л с толщиной слоя культуры 5 см. В контрольном варианте выращивание проходило при непрерывном освещении, в опытном варианте – в условиях свето-темнового режима 20 ч : 4 ч (свет : темнота). Освещенность рабочей поверхности культиваторов равнялась 10 кЛк, температура в светлое время – 25–27 °С, в темное время – 24–25 °С. Интенсивность освещения на поверхности культуры регистрировали однократно при помощи люксметра Ю-116, с погрешностью не более 5 % от измеряемой величины. В процессе выращивания культуру непрерывно барботировали воздухом с помощью компрессорной установки.

Отбор проб проводился ежедневно в начале и конце темного периода, в двух повторностях. Перед отбором проб доводили уровень суспензии в культиваторе до метки дистиллированной водой для компенсации испарения. Измеряли оптическую плотность на фотоэлектроколориметре КФК-2 при длине волны 750 нм, в стеклянных кюветах 0,5 см.

Абсолютно сухой вес (АСВ) вычисляли, используя коэффициент перехода от оптической плотности $k = 0,8$ г/л ед. опт. пл., $АСВ = k \times D_{750}$ [16].

Удельная скорость роста μ в экспоненциальной фазе рассчитана по формуле:

$$B = B_{t_n} \cdot e^{\mu_m(t-t_n)}, \quad (1)$$

где B_{t_n} – биомасса в начале экспоненциальной фазы t_n .

Максимальную продуктивность культуры микроводорослей определяли по формуле:

$$B = P_m \times t + B_0, \quad (2)$$

где B – биомасса, $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$; P_m – максимальная продуктивность, $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$; t – время, ч.; B_0 – биомасса в начале линейной фазы роста, т. е. при $t = t_0$.

Изменение удельной скорости роста со временем рассчитывали:

$$\mu = \frac{P_m}{B} = \frac{P_m}{B_l + P_m \cdot (t - t_l)}, \quad (3)$$

время удвоения биомассы определяли по формуле [17]:

$$g_2 = \frac{\ln 2}{\mu}, \quad (4)$$

где μ – удельная скорость деления, сут^{-1} .

Численность популяции подсчитывали в камере Горяева БКГ-4 [18], морфометрические измерения микроводорослей проводили на микроскопе Carl Zeiss AxioStar Plus при увеличении $\times 630$. Измеряли высоту и ширину клеток в монадном состоянии и в фазе деления.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью стандартных программных пакетов Microsoft Excel. Рассчитывали средние арифметические (\bar{x}), стандартные отклонения (S), ошибку средней, доверительные интервалы для средних ($\Delta \bar{x}$). Все расчеты проводили для уровня значимости $\alpha = 0,05$. В тексте и графиках представлены средние значения и рассчитанные доверительные интервалы ($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$) [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе накопительного культивирования продуктивность P_m , максимальная биомасса M_m и соответствующая экспоненциальной фазе удельная скорость роста культуры μ в условиях непрерывного освещения и свето-темновых циклов, существенным образом не отличались. Удельная скорость роста по численности клеток составила $0,67 \cdot \text{сутки}^{-1}$ в контрольном и $0,69 \cdot \text{сутки}^{-1}$ в опытном варианте. Продолжительность экспоненциальной фазы роста по плотности и репродуктивной активности культуры наблюдалась с 1 по 5 сутки эксперимента, достоверных отличий не обнаружено

Отмечено, что продолжительность линейной фазы роста по численности клеток при постоянном освещении оказалась почти в два раза дольше. При этом максимальная продуктивность при свето-темновом режиме составила $0,19 \cdot 10^6$ кл·мл $^{-1}$ ·сутки $^{-1}$, что в 1,6 раза выше, чем в контрольном варианте ($0,12 \cdot 10^6$ кл·мл $^{-1}$ ·сутки $^{-1}$). Отсутствие существенных различий на экспоненциальном и линейном участке по плотности культуры для двух вариантов эксперимента, вероятно, связано с относительно коротким промежутком темнового режима (рис. 1).

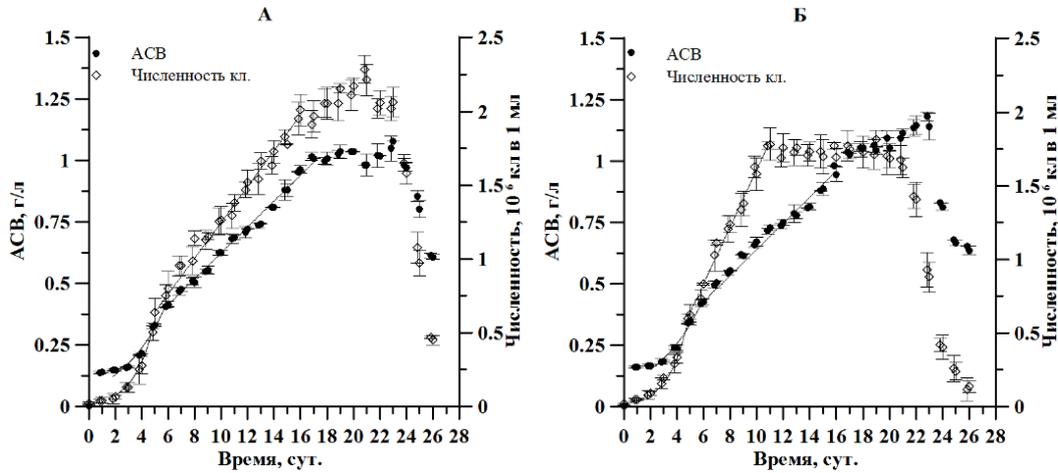


Рис. 1. Динамика плотности и численности клеток *D. viridis* в накопительной культуре при непрерывном освещении при (А) и свето-темновых циклах (Б)

Рассчитанное по численности клеток время удвоения g_2 в экспоненциальной фазе составило 1,0 сут⁻¹ для двух вариантов опыта. На линейном участке отмечается монотонное увеличение времени длительности вегетативной стадии. Так, к окончанию линейной фазы роста время генерации при круглосуточном освещении и свето-темновом режиме увеличилось в 5,8 и 4 раза соответственно.

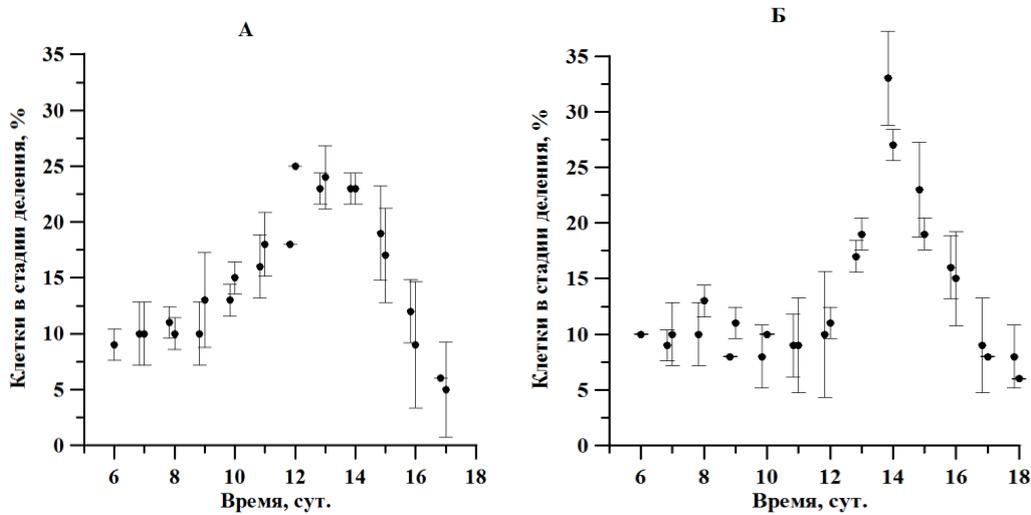


Рис. 2. Динамика доли клеток *D. viridis* в репродуктивной стадии на линейном участке при непрерывном освещении (А) и свето-темновых циклах (Б)

На протяжении линейной фазы роста отмечалось изменение физиологического состояния популяции *D. viridis*, сопровождающееся отслаиванием протопласта от клеточной оболочки, потерей жгутиков и способности к активному движению. Так, количество микроводорослей, находящихся в репродуктивной фазе, к середине линейного участка увеличилось в 3 раза, а к началу стационарной фазы роста уменьшилось в 4 раза. Максимальная доля делящихся клеток при постоянном освещении и свето-темновом режиме составила $25 \pm 0,01$ и 33 ± 4 % соответственно (рис. 2). Можно отметить, что увеличение доли микроводорослей, находящихся в стадии деления, вероятно, связано с изменением продуктивности, также увеличивающейся в середине линейного участка роста [20].

Анализ морфометрических параметров показал, что к окончанию экспоненциальной фазы роста средние размеры *D. viridis* в высоту и в ширину уменьшались в 1,2 раза в двух вариантах эксперимента.

По достижении линейной фазы в контрольном варианте первые 2-е суток отмечался рост среднего размера микроводорослей в высоту и в ширину в 1,1 раза. Последующие сутки высота клеток находилась на одном и том же уровне, и составила $11,8 \pm 0,3$ мкм, средняя же ширина на линейном участке уменьшилась в 1,1 раза. В опытном варианте рост среднего размера *D. viridis* как в высоту, так и в ширину отмечался на протяжении 7-ми суток, что в 1,2 раза выше по сравнению с началом линейного участка (рис. 3).

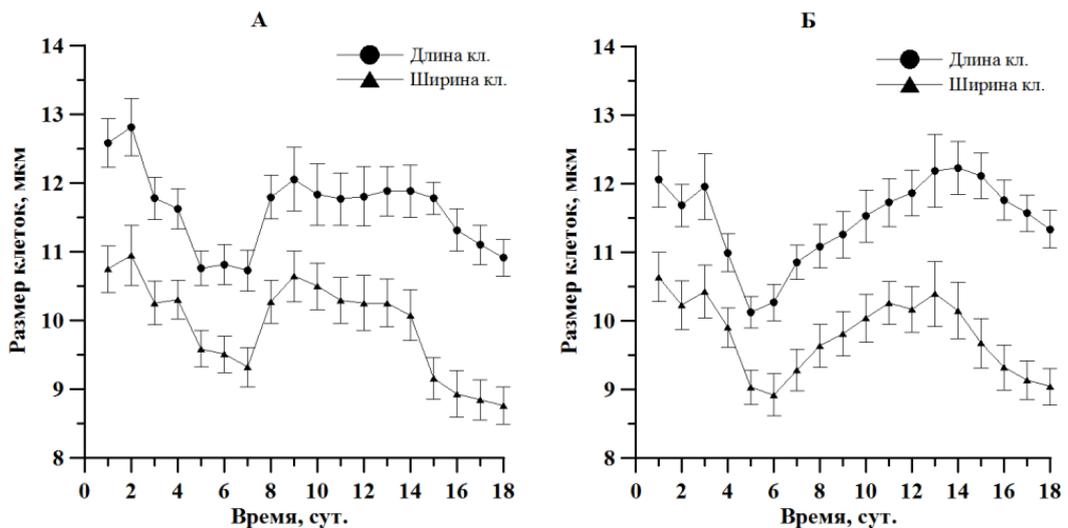


Рис. 3. Изменение высоты и ширины клеток *D. viridis* в накопительной культуре при непрерывном освещении (А) и свето-темновых циклах (Б)

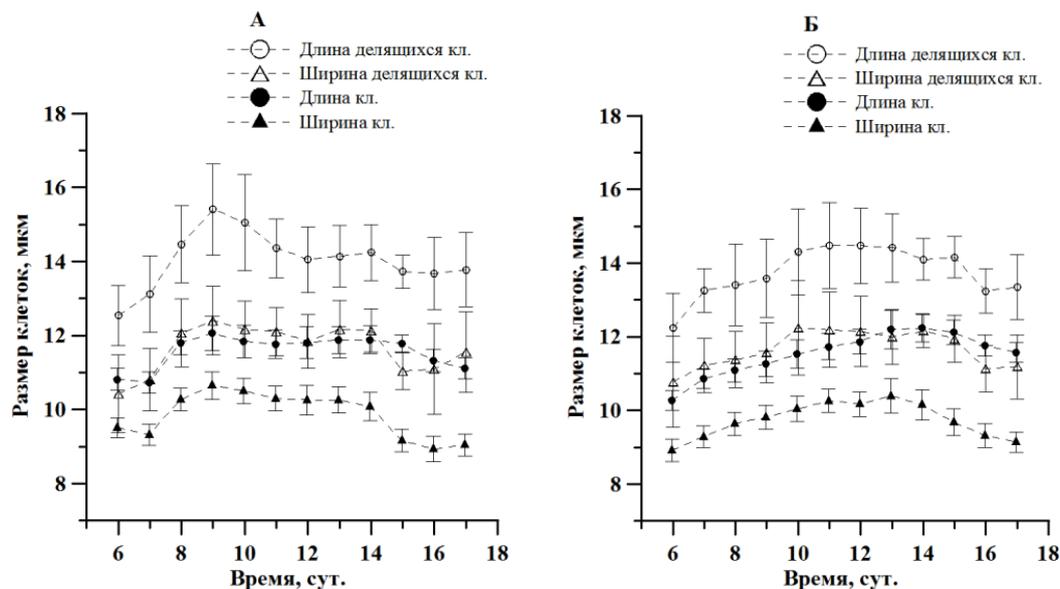


Рис. 4. Изменение высоты и ширины клеток *D. viridis* в вегетативном состоянии и в стадии деления на линейном участке роста при непрерывном освещении (А) и свето-темновых циклах (Б)

Анализируя изменения морфопараметров клеток *D. viridis*, находящихся в вегетативной и репродуктивной стадиях на линейном участке роста культуры (6–17 сутки), можно отметить, что средний размер делящихся микроводорослей в 1,2 раза выше, чем в вегетативном состоянии (рис. 4).

Средняя высота и ширина делящихся клеток в обоих вариантах находилась на одном уровне и составила $14 \pm 0,8$ x $11,7 \pm 0,7$ мкм в контрольном и $13,9 \pm 0,5$ x $11,7 \pm 0,4$ мкм в опытном варианте. Средний размер микроводорослей в вегетативной стадии также существенным образом не отличался и составил $11,6 \pm 0,5$ x $9,8 \pm 0,6$ мкм и $11,5 \pm 0,6$ x $9,7 \pm 0,5$ мкм соответственно.

В предыдущих исследованиях нами было выяснено, что соотношение между биомассой и численностью клеток на протяжении линейной фазы роста на одном и том же уровне свидетельствует об отсутствии изменений средних размеров культуры микроводорослей на данном участке [21].

Отмечено, что на протяжении экспоненциальной фазы роста размеры *D. viridis* достоверно уменьшались в двух вариантах опыта. В экспоненциальной фазе доля крупных клеток (от 14 мкм в высоту и от 13 мкм в ширину) уменьшилась от 20 до 2 %, средних размеров (9–14 мкм в длину и 8–13 мкм в ширину) увеличилась более чем на 10 %, а доля мелких (до 9 мкм в длину и до 8 мкм в ширину) увеличилась в 2,5 раза.

Подобные изменения гетерогенности размеров микроводорослей свидетельствуют о происходящих переменах индивидуального возраста клеток с преобладанием содержания «молодых», еще находящихся в стадии роста (рис. 5 и 6).

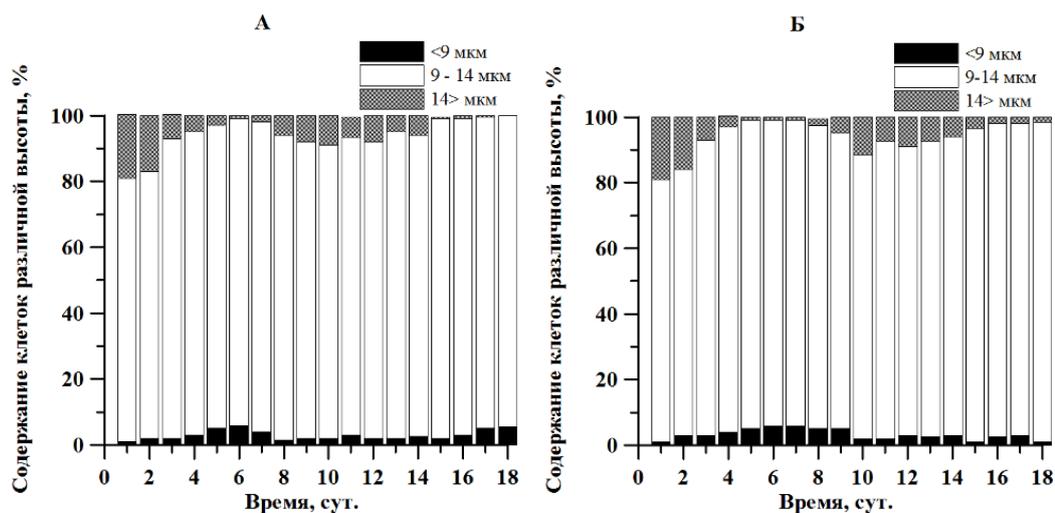


Рис. 5. Изменение высоты клеток *D. viridis* при непрерывном освещении (А) и свето-темновых циклах (Б)

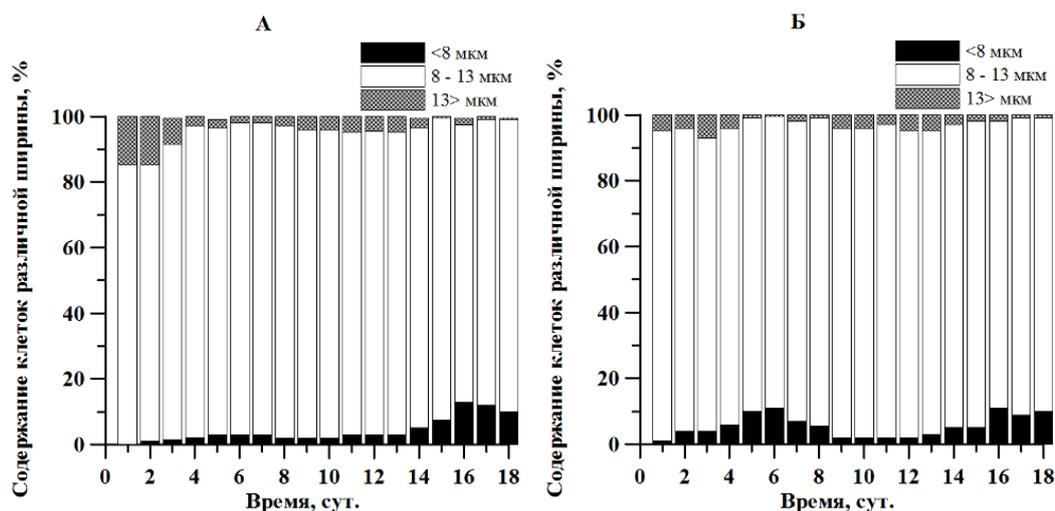


Рис. 6. Изменение ширины клеток *D. viridis* при непрерывном освещении (А) и свето-темновых циклах (Б)

На протяжении линейной фазы количество *D. viridis* средних размеров в двух вариантах оставалось неизменным, в то время как число «мелких» сократилось в 2 раза. В ходе эксперимента было выявлено, что при постоянном освещении на протяжении линейной фазы роста ширина клеток уменьшалась в 1,2 раза, в то время как длина осталась неизменной. При этом в культуре со свето-темновым режимом,

напротив, на линейном участке ширина клеток оставалась неизменной, в то время как длина увеличилась в 1,2 раза.

Следовательно, на линейном участке в двух вариантах опыта микроводоросли приобрели вытянутую форму. Подобные изменения формы клеток свойственны роду *Dunaliella*, в зависимости от условий среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование *D. viridis* при накопительном культивировании в условиях непрерывного освещения и свето-темновых циклах показало, что отсутствие существенных различий в двух вариантах опыта по плотности культуры, вероятно, связано с относительно коротким промежутком темного режима. При этом максимальная продуктивность по численности клеток при свето-темновом режиме оказалась в 1,6 раза выше, чем при постоянном освещении. Отмечено, что средний размер микроводорослей, находящихся в репродуктивной фазе, в 1,2 раза больше по сравнению с клетками, находящимися в вегетативном состоянии. Показано, что максимальная доля делящихся клеток на линейном участке составила 25 % при непрерывном освещении и 35 % при свето-темновом режиме. Установлено, что к окончанию экспоненциальной фазы роста средние размеры *D. viridis* в высоту и в ширину уменьшались в 1,2 раза, а по окончании линейной фазы роста клетки приобрели вытянутую форму в двух вариантах эксперимента.

Работа выполнена в рамках госзадания ФГБУН ИМБИ, тема № 0828-2018-0004.

Список литературы

1. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella Teod.* / Н. П. Масюк. – Киев: Наукова думка, 1973. – 487 с.
2. Ben-Amotz A. Mode of action of the massively accumulated, β -carotene of *Dunaliella bardawil* in protecting the alga against damage by excess irradiation / A. Ben-Amotz, A. Shaish, M. Avron // Plant Physiol. – 1989. – Vol. 91, №3. – P. 1040-1043.
3. Боровков А. Б. Зеленая микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (обзор) / А. Б. Боровков // Экология моря. – 2005. – Т. 67. – С. 5–17.
4. Tran D. Identification of *Dunaliella viridis* using its markers / D. Tran, C. Louime, T. Võ [et al.] // International journal of applied science and technology. – 2013. – Vol. 3, №4. – P. 118–126.
5. Bozhkov A. I. Growth of *Dunaliella* in "Ideal" Conditions Retains Annual Variability of Biochemical Features / A. I. Bozhkov, N. G. Menzhanova, M. K. Kovaleva, N. I. Pyatak // Universal journal of plant science. – 2014. – Vol. 2(2). – P. 31–39.
6. Ладыгина Л. В. Микроводоросли как кормовые объекты личинок мидий и устриц: автореф. дисс. на соиск. учен. канд. биол. наук: 03.00.17 «Гидробиология» / Л. В. Ладыгина. – Севастополь, 2007. – 24 с.
7. Масюк Н. П. Фотодвижение клеток *Dunaliella Teod.* (*Dunaliellales, Chlorophyceae, Viridiplantae*) / Н. П. Масюк, Ю. И. Посудин, Г. Г. Лилицкая. – Киев: Академ-периодика, 2007. – 264 с.
8. Лось Д. А. Влияние спектрального состава света на репликацию хлоропластной ДНК и деление хлоропластных нуклеоидов зеленой водоросли *Dunaliella salina* / Д. А. Лось, В. Захледер, Е. С. Купцова [и др.] // Физиология растений. – 1990. – Т. 37, вып. 2. – С. 1045–1052.
9. Десницкий А. Г. Клеточные циклы и синтез ДНК в культурах динофлагеллят / А. Г. Десницкий // Цитология. – 1988. – Т. XXX, № 9. – С. 1035–1041.

10. Шушанашвили В. И. Влияние светотемновых периодов и интенсивности света на фотосинтез, прирост биомассы и скорость деления автотрофных клеток эвглены / В. И. Шушанашвили, В. Е. Семенов // Физиология растений. – 1985. – Т. 32, вып. 2. – С. 323–331.
11. Авсиян А. Л. Динамика плотности культуры и растворенного органического вещества при культивировании микроводоросли *Dunaliella salina* в условиях свето-темнового режима / А. Л. Авсиян // Бюллетень ГНБС. – 2014. – Т. 11. – С. 21–26.
12. Мельников С. С. Влияние чередования световых и темновых периодов на продуктивность *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordst.) Geitler / С. С. Мельников, Т. В. Самович, Е. Е. Мананкина [и др.] // Альгология. – 2012. – Т. 22, № 2. – С. 121–130.
13. Srirangan S. Interaction of temperature and photoperiod increases growth and oil content in the marine microalgae *Dunaliella viridis* / S. Srirangan, M. Sauer, B. Howard [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – № 10 (2). URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127562>
14. Тренкеншу Р. П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики морских микроводорослей в плотной культуре: автореф. дисс. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: 03.00.02 «Биофизика» / Р. П. Тренкеншу. – Красноярск, 1984. – 28 с.
15. Тренкеншу Р. П. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей / Р. П. Тренкеншу, А. С. Лелеков, А. Б. Боровков [и др.] // Вопросы современной альгологии. – 2017. – №1 (13). URL: <http://algology.ru/1097>.
16. Боровков А. Б. Динамика пигментов и роста морских микроводорослей в хемостате на примере *Dunaliella salina* Teod.: автореф. дисс. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: 03.00.17 «Гидробиология» / А. Б. Боровков. – Севастополь, 2008. – 31 с.
17. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура / Тренкеншу Р. П. // Экология моря. – 2005. – Т. 67. – С. 89–97.
18. Сиренко Л. А. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л. А. Сиренко. – Киев: Наукова думка, 1975. – 247 с.
19. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
20. Тренкеншу Р. П. Линейный рост морских микроводорослей в культуре / Р. П. Тренкеншу, А. С. Лелеков, Т. М. Новикова // Морской биологический журнал. – 2018. – Т. 3, № 1. – (В печати).
21. Мальцева О. А. Морфометрические характеристики клеток микроводоросли *Dunaliella viridis* в накопительной культуре / О. А. Мальцева // Вопросы современной альгологии. – 2017. – № 1 (13). URL: <http://algology.ru/1137>.

**MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF CELLS MICROALGAE
DUNALIELLA VIRIDIS TEOD. IN BATCH CULTURE UNDER CONTINUOUS
ILLUMINATION AND LIGHT-DARK CYCLES**

Memetshaeva O. A., Borovkov A. B.

*A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research RAS, Sevastopol, Russia
E-mail: olga.memetshaeva@mail.ru*

Data on the effect of photoperiod on reproductive activity and morphometric growth characteristics of *Dunaliella viridis* Teod. are presented in batch culture under conditions of continuous illumination and light-dark cycles.

An experimental study showed that absence of significant differences in the exponential and linear segment by culture density for the two variants of the experiment is probably related to the relatively short interval of the dark regime. The specific growth rate for the number of cells was $0.67 \cdot 10^6$ cells·ml⁻¹·day⁻¹ in the control and $0.69 \cdot 10^6$ cells·ml⁻¹·day⁻¹ in the experimental option. At the same time, the maximum

productivity by the number of cells under light-dark conditions was 1.6 times higher than under constant illumination.

The time of doubling g_2 in the exponential phase calculated for the number of cells was 1.0 day^{-1} for two variants of the experiment. In the linear segment, a monotonous increase in the duration of the vegetative stage can be noted. Thus, by the end of the linear growth phase, the generation time at 24-hour illumination and light-dark mode increased by 5.8 and 4 times, respectively.

During the linear phase of growth, a change in the physiological state of the *D. viridis* population was noted, accompanied by exfoliation of the protoplast from the cell wall, loss of flagella and the ability to actively move. Thus, the number of microalgae in the reproductive phase increased by 3 times at the middle of the linear section, and by the beginning of the stationary phase of growth decreased by 4 times. The maximum percentage of dividing cells under constant illumination and light-dark mode was 25 and 33 %, respectively.

Analyzing the changes in the morphoparameters of *D. viridis* cells in the vegetative and reproductive stages on the linear part of the culture growth (6–17 days), it can be noted that the average size of dividing microalgae is 1.2 times higher than in the vegetative state.

In the course of the experiment, it was found that during the exponential phase of growth, the cell sizes decrease reliably in the two variants of the experiment. The proportion of large cells (from $14 \mu\text{m}$ in height and from $13 \mu\text{m}$ in width) decreased from 20 to 2 %, medium sizes ($9\text{--}14 \mu\text{m}$ in length and $8\text{--}13 \mu\text{m}$ in width) increased by more than 10 %, and the proportion of small (up to 9 microns in length and up to 8 microns in width) increased by 2.5 times. Such changes in the heterogeneity of the size of microalgae indicate the changes in the individual age of cells with a predominance of "young", still in the growth stage.

It was noted that under constant illumination during the linear growth phase the cells width decreased by 1.2 times, while the length remained unchanged. Moreover, in culture with light-dark mode, on the contrary, the width of the cells remained unchanged on the linear section, while the length increased by 1.2 times. Consequently, in a linear segment in two variants of the experiment, the microalgae acquired an elongated shape. Similar changes in the shape of cells are characteristic of the genus *Dunaliella*, depending on environmental conditions.

Keywords: *Dunaliella viridis*; density; number; height and width of cells; division; batch culture; continuous lighting; light-dark mode.

References

1. Masyuk N. P. *Morphology, taxonomy, ecology, geographical distribution of the genus Dunaliella Teod.* 487 p. (Scientific thought, Kiev, 1973)
2. Ben-Amotz A., Shaish A. and Avron M. Mode of action of the massively accumulated, β -carotene of *Dunaliella bardawil* in protecting the alga against damage by excess irradiation, *Plant Physiol*, **91** (3), 1040 (1989).
3. Borovkov A. B. Green microalga *Dunaliella salina* Teod. (review), *Ecology of the sea*, **67**, 5 (2005).

4. Tran D., Louime C., Vø T., Giordano M., Portilla S., Doan N., Tran D., Mai T. and Bui L. Identification of *Dunaliella viridis* using its markers, *International journal of applied science and technology*, **3** (4), 118 (2013).
5. Bozhkov A. I., Menzyanova N. G., Kovaleva M. K. and Pyatak N. I. Growth of *Dunaliella* in "ideal" conditions retains annual variability of biochemical features, *Universal journal of plant science*, **2** (2), 31 (2014).
6. Ladygina L. V. *Microalgae as fodder objects of the larvae of mussels and oysters: Abstract. dis. cand. biol. sciences*, 24 p. (Sevastopol, 2007).
7. Masyuk N. P., Posudin Yu. I. and Lilitkaya G. G. *Photo movement of Dunaliella Teod. cells (Dunaliellales, Chlorophyceae, Viridiplantae)*, 264 p. (Academic periodicals, Kiev, 2007).
8. Los D. A., Zakhleder V., Kuptsova E. S., Ksenofontov A. L., Markelova A. G., Shapiguzov Yu. M. and Semenenko V. E. Effect of the spectral composition of light on the replication of chloroplast DNA and the division of chloroplast nucleoids of green alga *Dunaliella salina*, *Physiology of plants*, **37** (2), 1045 (1990).
9. Desnitsky A. G. Cellular cycles and DNA synthesis in dinoflagellate cultures, *Cytology*, **XXX** (9), 1035 (1988).
10. Shushanashvili V. I. and Semenenko V. E. Influence of light-dark periods and light intensity on photosynthesis, growth of biomass and division rate of autotrophic euglena cells, *Physiology of plants*, **32** (2), 323 (1985).
11. Avsiyan A. L. Dynamics of the density of culture and dissolved organic substances in the cultivation of microalga *Dunaliella salina* under conditions of light-dark mode, *Bul. Nikit. Botan. Gard*, **11**, 21 (2014).
12. Melnikov S. S., Samovich T. V., Manankina E. E. and Budakova E. A. Influence of the alternation of light and dark periods on the productivity of *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordst.) Geitler, *Algology*, **22** (2), 121 (2012).
13. Srirangan S., Sauer M., Howard B., Dvora M., Dums J., Backman P. and Sederoff H. Interaction of temperature and photoperiod increases growth and oil content in the marine microalgae *Dunaliella viridis*, *PLoS ONE*, **10** (5): e0127562, URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127562> (2015).
14. Trenkenshu P. P. *Growth and photoenergy characteristics of marine microalgae in dense culture: Abstract. dis. cand. biol. sciences*, 28 p. (Krasnoyarsk, 1984).
15. Trenkenshu R. P., Lelekov A. S., Borovkov A. B. and Novikova T. M. Unified installation for microalgae laboratory studies, *Issues of modern algology*, **1** (13), URL: <http://algology.ru/1097> (2017).
16. Borovkov A. B. *Dynamics of pigments and growth of marine microalgae in a chemostate by the example of Dunaliella salina Teod.: Abstract. dis. cand. biol. sciences*, 31 p. (Sevastopol, 2008).
17. Trenkenshu R. P. The simplest models of microalgae growth. 1. Periodic culture, *Ecology of the sea*, **67**, 89 (2005).
18. Sirenko L. A. *Methods of physiological and biochemical study of algae in hydrobiological practice*, 247 p. (Scientific thought, Kiev, 1975).
19. Lakin G. F. *Biometrics: Educational book for biol. spec. universities - the 4th edition*, 352 p. (Higher school, Moskow, 1990).
20. Trenkenshu R. P., Lelekov A. S. and Novikova T. M. Linear growth of marine microalgae in culture, *Marine biological journal*, **3** (1), in press (2018).
21. Maltseva O. A. Morphometric characteristics of cells of microalga *Dunaliella viridis* in batch culture, *Issues of modern algology*, **1** (13), URL: <http://algology.ru/1137> (2017).

УДК 612.886

РАЗВИТИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ НАВЫКОВ КООРДИНАЦИИ БАЛАНСИРОВОЧНЫХ ДВИЖЕНИЙ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Нагаева Е. И., Бирюкова Е. А., Черный С. В., Власова В. В., Кускевич Т. В.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: enagaeva75@mail.ru*

Статья рассматривает влияние биологической обратной связи по стабилметрическим параметрам на способность к поддержанию равновесия у мальчиков 10 лет. Исследование выявило, что двигательльно-когнитивная динамическая проба оказывает положительное влияние на постуральную устойчивость младших школьников.

Ключевые слова: стабилметрия, постуральная устойчивость, биологическая обратная связь (БОС) по стабилметрическим параметрам, младший школьный возраст.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время многие исследования посвящены изучению тренингов в виде упражнений в виртуальной реальности на равновесие для развития постуральной устойчивости [1–3]. Почти во всех исследованиях сделан вывод, что программа виртуального тренинга баланса с использованием компьютерной техники и реабилитационного оборудования является эффективным методом для улучшения динамического или статического баланса [3]. Вместе с тем практически отсутствуют экспериментальные работы, связанные с изучением постурального баланса у детей младшего школьного возраста и влияния на функцию поддержания равновесия биологической обратной связи (БОС) по стабилметрическим параметрам. Так как младший школьный возраст является сенситивным периодом в развитии координационных способностей, детальное изучение постурального баланса и эффективности применения БОС по стабилметрическим параметрам у детей этого возраста не только позволит провести оценку и прогноз развития координационных способностей, но и может стать эффективным способом развития способностей к поддержанию равновесия.

Целью нашего исследования было изучение влияния биологической обратной связи (БОС) по стабилметрическим параметрам на способность к поддержанию равновесия у мальчиков 10 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в декабре 2016 года на базе МБОУ СОШ № 2 г. Симферополя и Центра коллективного пользования «Экспериментальная физиология и биофизика» Таврической академии ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского.

Обследованы 2 группы по 10 детей – учащихся 5 классов. В группу 1 вошли дети в возрасте $10,02 \pm 0,3$ лет, которым ежедневно в течение 5 дней учебной недели проводили двухфазный тест – модифицированную пробу Ромберга (30 секунд с открытыми глазами, 30 секунд с закрытыми глазами) на стабилметрической платформе ST-150. Во 2 группу вошли 10 детей в возрасте $10,03 \pm 0,2$ лет, с которыми после ежедневного проведения двухфазного теста Ромберга на стабилметрической платформе в течение 5 дней проводили двигательно-когнитивный тест, реализованный в виде динамической пробы, когда испытуемому предлагалось в течение 5-ти минут смещать метку на экране монитора, связанную с проекцией центра давления на стабилметрической платформе в соответствии с программой, заданной на экране монитора [2], после чего у них повторно проводили пробу Ромберга. Целью двигательно-когнитивной динамической пробы была тренировка постуральной устойчивости методом биологической обратной связи по стабилметрическим параметрам. От родителей всех испытуемых было получено добровольное согласие на участие в исследованиях.

Исследования проходили с использованием сертифицированного электронного стабилметрического устройства ST-150 (ТУ 9441-005-49290937-2009), имеющего метрологическую аттестацию (Свидетельство об утверждении типа средств измерений RU.C.28.004.A № 41201) и внесенного в государственный реестр средств измерений, а также лицензионного программного обеспечения STPL (ООО Мера-ТСП, г. Москва). В ходе исследования регистрировались основные показатели стабิโลграммы, в частности длина (L , мм), площадь (S , мм²) статокинезиограммы и работа (A , Дж) по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры и коэффициент Ромберга (KP , усл. ед.). Целью двигательно-когнитивной динамической пробы была тренировка постуральной устойчивости методом биологической обратной связи по стабилметрическим параметрам.

Для математической обработки фактического материала использовался пакет программ STATISTICA 5.0. Для анализа полученных данных применялись стандартные методы вариационной статистики: мерами центральных тенденций, иллюстрирующими выраженность исследуемых признаков, выступали значения среднего и стандартной ошибки среднего. Для выявления внутригрупповых различий применяли критерий Вилкоксона для зависимых выборок, для выявления различий между исследуемыми группами применялся критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования были выявлены внутригрупповые различия исследуемых показателей, значения которых представлены в таблице 1.

Таблица 1

Достоверность различий показателей пробы Ромберга в 1 и 2 группе младших школьников между 1 и 5 днем обследования

Группа 1			
Исследуемый показатель	1 день X±Sx	5 день X±Sx	P
Длина статокинезиограммы с открытыми глазами (Lo), мм	303,16±43,90	406,18±54,04	0,027
Длина статокинезиограммы с закрытыми глазами (Lз), мм	389,10±58,12	537,56±92,33	0,115
Площадь статокинезиограммы с открытыми глазами (So), мм ²	231,80±71,09	486,20±152,85	0,027
Площадь статокинезиограммы с закрытыми глазами (Sз), мм ²	403,83±238,75	656,66±319,79	0,248
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с открытыми глазами (Ao), Дж	2,17±0,58	3,78±1,08	0,027
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с закрытыми глазами (Az), Дж	3,62±0,95	7,72±3,46	0,115
Коэффициент Ромберга (КР), усл. ед.	170,66±18,05	181,66±23,94	0,916
Группа 2			
Длина статокинезиограммы с открытыми глазами (Lo), мм	422,20±89,49	316,78±39,50	0,046
Длина статокинезиограммы с закрытыми глазами (Lз), мм	509,50±109,18	583,14±165,62	0,224
Площадь статокинезиограммы с открытыми глазами (So), мм ²	237,76±61,34	132,84±28,22	0,115
Площадь статокинезиограммы с закрытыми глазами (Sз), мм ²	366,75±148,77	623,08±321,21	0,074
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с открытыми глазами (Ao), Дж	4,87±2,20	2,56±0,53	0,046
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с закрытыми глазами (Az), Дж	6,59±2,78	9,97±5,27	0,345
Коэффициент Ромберга (КР), усл. ед.	139,83±11,42	202,33±28,09	0,027

В 1 группе обследуемых школьников в течение 5 дней обследования наблюдались статистически значимые изменения показателей пробы Ромберга с открытыми глазами, так, в первый день длина статокинезиограммы составила $303,16 \pm 43,90$ мм, а на 5 день этот показатель увеличился на 33,98 % и составил $406,18 \pm 54,04$ мм ($p < 0,05$). Площадь статокинезиограммы также увеличилась на 5 день с $231,80 \pm 71,09$ мм² до $486,20 \pm 152,85$ мм² на 109 % ($p < 0,05$). Показатель работы по перемещению общего центра давления в плоскости опоры с открытыми глазами в первый день обследования составил $2,17 \pm 0,58$ Дж, а к 5 дню увеличился до $3,78 \pm 1,08$ Дж на 74,19 % (табл. 1, рис. 1). С закрытыми глазами исследуемые показатели пробы Ромберга не имели статистически значимых отличий, так, в 1 день обследования длина статокинезиограммы составила $389,10 \pm 58,12$ мм, а на 5 день увеличилась на 38,15 % до $537,56 \pm 92,33$ мм ($p > 0,05$), площадь статокинезиограммы возросла на 62,6 % ($p > 0,05$) с $403,83 \pm 238,75$ мм² до $656,66 \pm 319,79$ мм² на 5 день обследования, показатель работы по перемещению (ОЦД) вырос на 113,25 % ($p > 0,05$) с $3,62 \pm 0,95$ Дж до $7,72 \pm 3,46$ Дж (табл. 1, рис. 1).

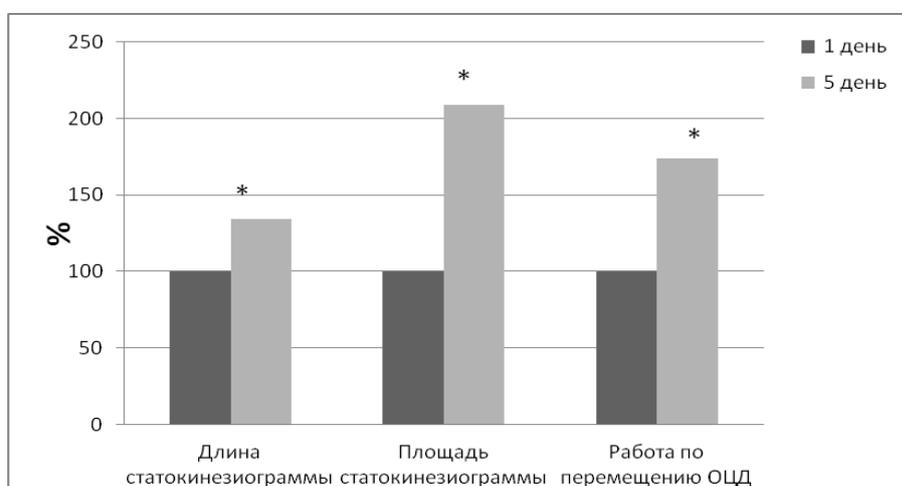


Рис. 1. Динамика показателей пробы Ромберга с открытыми глазами, выраженная в процентах изменений в 1 и 5 день обследования, у исследуемых 1 группы (* – $p < 0,05$)

Полученные результаты свидетельствуют о снижении показателей поструральной устойчивости в 1 группе школьников к концу рабочей недели. Это, возможно, вызвано тем, что процесс пребывания ребенка в школе в течение учебной недели приводит к снижению порога психоэмоционального возбуждения, снижению показателей основных психических функций и двигательной активности [4]. Считается, что подобные изменения связаны с высоким уровнем когнитивной нагрузки и особенностями микросоциального окружения [5], а также с вынужденным поддержанием режима дня [6]. Указанные выше причины приводят к усилению спонтанной, а не произвольной двигательной активности, что

характеризуется повышением уровня коркового возбуждения на фоне снижения эффективности решения когнитивных задач [7]. В свою очередь, данный вид двигательной активности приводит к специфическому изменению в восприятии окружающего пространства, что характеризуется снижением восприятия расстояния и, как следствие, снижением контроля за положением тела в пространстве [8].

Во второй группе школьников после проведения пробы Ромберга и БОС по стабилометрическим параметрам в течение 5 дней показатели пробы Ромберга с открытыми глазами имели статистически значимые изменения. Так, в первый день длина статокинезиограммы с открытыми глазами составила $422,20 \pm 89,49$ мм, а на 5 день этот показатель уменьшился на 24,96 % и составил $316,78 \pm 39,50$ мм ($p < 0,05$), площадь статокинезиограммы уменьшилась на 55,87 % ($p > 0,05$) с $237,76 \pm 61,34$ мм² до $132,84 \pm 28,22$ мм², а показатель работы по перемещению общего центра давления в плоскости опоры с открытыми глазами в первый день обследования составил $4,87 \pm 2,20$ Дж, а к 5 дню уменьшился до $2,56 \pm 0,53$ Дж на 47,43 % ($p < 0,05$) соответственно (табл. 1, рис. 2). С закрытыми глазами исследуемые показатели пробы Ромберга не имели статистически значимых отличий, так, в 1 день обследования длина статокинезиограммы составила $509,50 \pm 109,18$ мм, а на 5 день увеличилась на 14,45 % до $583,14 \pm 165,62$ мм ($p > 0,05$), площадь статокинезиограммы возросла на 69,89 % ($p > 0,05$) с $366,75 \pm 148,77$ мм² до $623,080 \pm 321,21$ мм² на 5 день обследования, показатель работы по перемещению (ОЦД) вырос на 51,28 % ($p > 0,05$) с $6,59 \pm 2,78$ Дж до $9,97 \pm 5,27$ Дж (табл. 1, рис. 2).

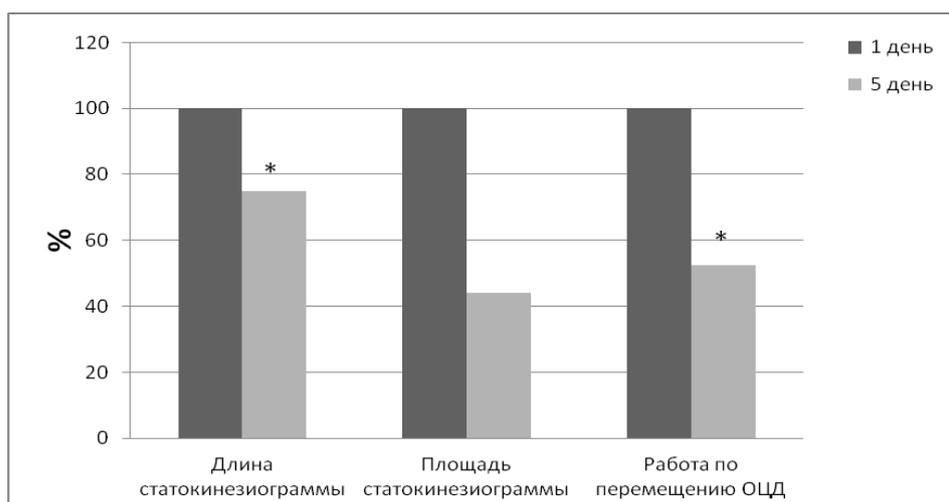


Рис. 2. Динамика показателей пробы Ромберга, выраженная в процентах изменений в 1 и 5 день обследования, у исследуемых 2 группы (* – $p < 0,05$)

Полученные результаты свидетельствуют об улучшении показателей поструральной устойчивости во 2 группе школьников к концу рабочей недели. Это вызвано тем, что используемая динамическая тренировка по методу БОС с

визуализацией перемещения центра давления на экране монитора в первую очередь тренирует визуальную систему контроля баланса, а в возрасте 9–11 лет у детей постуральная устойчивость в значительной мере функционально опосредована зрительным контролем [9].

В результате проведенного исследования были выявлены внутригрупповые различия коэффициента Ромберга (КР), значения которых представлены в таблице 1. Так, в 1 группе школьников на 5 день обследования достоверных изменений КР по сравнению с 1 днем обнаружено не было (табл. 1, рис. 3). Во 2 группе школьников после прохождения БОС по стабилметрическим параметрам (динамическая проба) по сравнению с первым днем этот показатель достоверно изменился с $139,83 \pm 11,42$ усл. ед. до $202,33 \pm 28,09$ усл. ед. ($p < 0,05$) т. е. на 44,69 % (табл. 1, рис. 3).

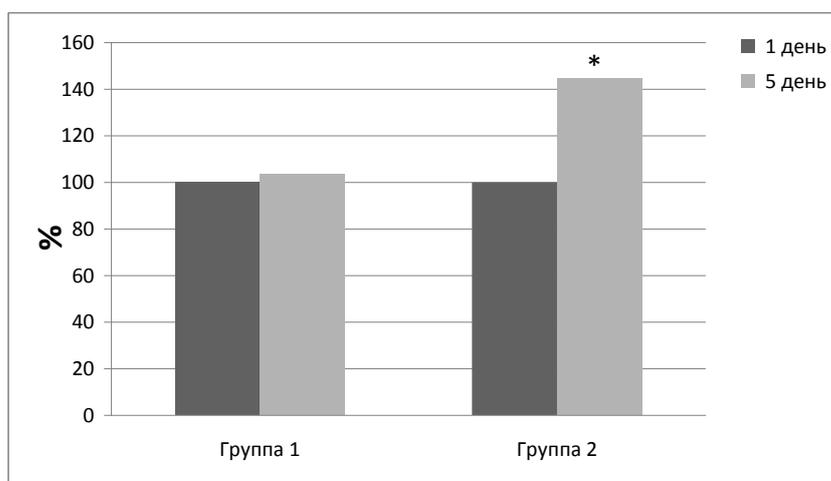


Рис. 3. Динамика коэффициента Ромберга, выраженная в процентах изменений в 1 и 5 день обследования, у исследуемых 1 и 2 группы младших школьников

У младших школьников постуральная устойчивость опосредована зрительным контролем [9], что характеризуется функциональной незрелостью взаимосвязей между вестибулярной и центральной нервной системами [10]. Коэффициент Ромберга количественно определяет соотношение между зрительной и проприорецептивной системами в контроле баланса в основной стойке [11]. Увеличение значений коэффициента Ромберга во 2 группе обследуемых школьников свидетельствует о возрастании вклада зрительной системы в поддержание постуральной устойчивости и обусловлено тем, что посредством БОС по стабилметрическим параметрам тренируется именно визуальная система контроля баланса.

Таблица 2

Достоверность различий показателей пробы Ромберга в 1 и 2 группе младших школьников в 1 день обследования

Исследуемый показатель	Группа 1 X±Sx	Группа 2 X±Sx	P1
Длина статокинезиограммы с открытыми глазами (Lo), мм	303,16±43,90	422,20±89,49	0,016
Длина статокинезиограммы с закрытыми глазами (Lз), мм	389,10±58,12	509,50±109,18	0,075
Площадь статокинезиограммы с открытыми глазами (So), мм ²	231,80±71,09	237,76±61,34	0,815
Площадь статокинезиограммы с закрытыми глазами (Sз), мм ²	403,83±238,75	366,75±148,77	0,627
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с открытыми глазами (Ao), Дж	2,17±0,58	4,87±2,20	0,031
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с закрытыми глазами (Az), Дж	3,62±0,95	6,59±2,78	0,028

Таблица 3

Достоверность различий показателей пробы Ромберга в 1 и 2 группе младших школьников на 5 день обследования

Исследуемый показатель	Группа 1 X±Sx	Группа 2 X±Sx	P2
Длина статокинезиограммы с открытыми глазами (Lo), мм	406,18±54,04	316,78±39,50	0,035
Длина статокинезиограммы с закрытыми глазами (Lз), мм	537,56±92,33	583,14±165,62	0,770
Площадь статокинезиограммы с открытыми глазами (So), мм ²	486,20±152,85	132,84±28,22	0,011
Площадь статокинезиограммы с закрытыми глазами (Sз), мм ²	656,66±319,79	623,08±321,21	0,730
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с открытыми глазами (Ao), Дж	3,78±1,08	2,56±0,53	0,131
Работа по перемещению общего центра давления (ОЦД) в плоскости опоры с закрытыми глазами (Az), Дж	7,72±3,46	9,97±5,27	0,129

Анализ межгрупповых различий выявил статистически значимую разницу ($p < 0,05$) в показателях длины и работы по перемещению общего центра давления с открытыми и закрытыми глазами в 1 день обследования. Во 2 группе школьников данные показатели были выше на 39,26 %, 124,42 % и 82 % соответственно по сравнению с первой группой (табл. 2). На 5 день обследования статистически значимыми ($p < 0,05$) были различия в показателях в длине и площади статокинезиограммы с открытыми глазами, во второй группе исследуемые показатели были ниже на 22,01 % и 74,5 % соответственно (табл. 2, 3).

Таким образом, снижение уровня контроля постурального баланса на протяжении недели школьного обучения в 1 группе школьников связано с процессами функционального утомления центральной нервной системы под влиянием когнитивных нагрузок и социальных факторов, а также с преимущественным влиянием зрительной системы на контроль положения тела у детей данного возраста. Увеличение контроля постурального баланса во 2 группе обусловлено влиянием БОС по стабилметрическим параметрам с визуализацией перемещения центра давления, направленной именно на тренировку зрительной системы контроля баланса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В 1 группе детей, с которой не проводился БОС по стабилметрическим параметрам, анализ внутригрупповых различий полученных результатов выявил статистически значимое ($p < 0,05$) изменение показателей постуральной устойчивости, выражавшееся в увеличении длины и площади статокинезиограммы при открытых глазах на 33,98 % и 109 % соответственно. Показатель работы по перемещению общего центра давления в плоскости опоры увеличился на 74,19 % к концу учебной недели, что свидетельствует об ухудшении стабильности баланса и обусловлено процессами функционального утомления центральной нервной системы под влиянием когнитивных нагрузок и социальных факторов.
2. У исследуемых школьников 2 группы после проведения БОС по стабилметрическим параметрам на протяжении 5 суток обследования наблюдалось статистически достоверное ($p < 0,05$) уменьшение показателей длины на 24,96 % и площади статокинезиограммы на 55,87 % при открытых глазах, а также показателя работы по перемещению общего центра давления в плоскости опоры на 47,43 %. Это свидетельствует о тренировке визуальной системы контроля баланса и улучшении стабильности баланса в основной стойке под влиянием БОС.
3. Анализ межгрупповых различий на 5 день обследования выявил статистически значимую разницу ($p < 0,05$) в показателях в длины и площади статокинезиограммы с открытыми глазами. Во второй группе исследуемые показатели были ниже на 22,01 % и 74,5 % соответственно. Результаты проведенного исследования свидетельствуют об эффективности применения БОС по стабилметрическим параметрам для коррекции показателей постуральной устойчивости младших школьников.

Выполнено на базе Центра коллективного пользования “Экспериментальная физиология и биофизика”.

Поддержано Программой развития ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского на 2015-2024 г. в рамках проекта «Системные механизмы изменения функционального состояния волонтеров под влиянием биоуправления по опорной реакции» приказ № от 23.11. 2017 № 1033.

Список литературы

1. Teasdale N. The role of proprioceptive information for the production of isometric forces and for handwriting tasks / N. Teasdale, R. Forget, C. Bard [et al.]. – San Francisco: Acta Psychol. – 1993. – Vol. 82. – P. 179–191.
2. Кубряк О. В. Практическая стабилметрия. Статические двигательные- когнитивные тесты с биологической обратной связью по опорной реакции / О. В. Кубряк, С. С. Гороховский. – М.: Маска, 2012 – 88 с.
3. Ibrahim M. S. Efficacy of virtual reality-based balance training versus the Biodex balance system training on the body balance of adults / M. S. Ibrahim, A. G. Mattar, S. M. Elhafez [et al.] // Journal of Physical Therapy Science. – 2016. – Vol. 28, No 1. – P. 20–26
4. Park S. The impact of the availability of vending machines on eating behavior during lunch: the Youth Physical Activity and Nutrition Survey / S. Park, W. Sappenfield, Y. Huang [et al.] // Am Diet Assoc. – 2010. – Vol. 110, No 10. – P. 1532–1536.
5. Biddle S. J. Physical activity and mental health in children and adolescents / S. J. Biddle, M. Asare // Sports Med. – 2011. – Vol. 45, No 11. – P. 886–895.
6. Bostic J. Building Better Brains: Evidence-Based Interventions to Enhance Contemporary Schooling / J. Bostic, L. Hart // Child Adolesc Psychiatric Clin N Am. – 2012. – Vol. 21. – P. 69–80.
7. Dragnea A. A. The Theory of Motor Activities // A. Dragnea, A. Bota. – Bucharest: Didactic and Pedagogical Publishing House R. A., 1999. – 136 p.
8. Albu A. Perceptual-Motor at Age of Growth and Development / A. Albu, C. Albu // Iasi: Publishing House Spiru Haret. – 1999. – Vol. 91. – P. 103–105.
9. Cherng R. Vestibular system in performance of standing balance of children and young adults under altering sensory conditions / R. Cherng, J. Chen, F. Su // Percept. Motor Skills. – 2001. – Vol. 92. – P. 1167–1179.
10. Ferber-Viart C. Balance in healthy individuals assessed with Equitest: maturation and normative data for children and young adults / C. Ferber-Viart, E. Ionescu, T. Morlet [et al.] // Pediatr. Otorhinolaryngol. – 2007. – Vol. 71. – P. 1041–1046.
11. Скворцов Д. В. Стабилметрическое исследование / Д. В. Скворцов. – М.: Маска, 2010. – 176 с.

THE DEVELOPMENT OF SPECIALIZED SKILLS, COORDINATION, BALANCE MOVEMENTS AMONG CHILDREN OF PRIMARY SCHOOL AGE

Nagaeva E. I., Biryukova E. A., Cherniy S. V., Vlasova V. V., Kuskevych T. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: enagaeva75@mail.ru*

Recently, many research works are devoted to the study of trainings in the form of exercises on balance for the development of postural stability carried out in virtual reality. However, there is practically no experimental work associated with the study of postural

balance and the influence of biological feedback (BFB) by stabilometric parameters on the function of maintaining the balance among children of primary school age. The aim of the investigation was to study the effect of BFB by stabilometric parameters on the ability to maintain balance among boys of 10 years.

There were 2 groups of 10 children each, pupils of 5th grades of primary school examined. Group 1 included children aged 10.02 ± 0.3 years, who daily performed the Romberg test on a stabilometric platform. Group 2 consisted of 10 children aged 6.03 ± 0.2 years, who were the subjects of the following studies: postural test (Romberg test), followed by motor-cognitive dynamic test, and then again Romberg test. The research has been carried out using a stabilometric platform ST-150 with software STPL.

The 1st group of testees showed a decrease in postural stability by the end of the school week. The 2nd group of testees showed the improvement in the stability of the balance in the main stance under the influence of BFB by stabilometric parameters. The analysis of intergroup differences on the 5th day of the survey revealed statistically significant difference ($p < 0.05$) in the indicators of length and area of statokinesigram with open eyes. In the second group the studied indices were lower by 22.01 % and 74.5 % respectively. The results of the study indicate the effectiveness of use of BFB by stabilometric parameters for the correction of postural stability among primary school children.

Keywords: stabilometry, postural stability, biological feedback (BFB) by stabilometric parameters, primary school age.

References

1. Teasdale N., Forget R., Bard C., Paillard J., Fleury M., Lamarre Y. The role of proprioceptive information for the production of isometric forces and for handwriting tasks, *Acta Psychol*, **82**, 179 (1993).
2. Kubryak O. V., Gorohovskiy S. S. *Prakticheskaya stabilometriya. Sticheskie dvigatelno- kognitivnye testy i biologicheskoy obratnoy svyazyu po opornoy reaktivnosti*, 88 („Maska“, Moscow, 2012).
3. Ibrahim M. S., Mattar A.G., Elhafez S.M. Efficacy of virtual reality-based balance training versus the Biodex balance system training on the body balance of adults. *Journal of Physical Therapy Science*, **28(1)**, 20 (2016).
4. Park S., Sappenfield W.M., Huang Y. et al. The impact of the availability of school vending machines on eating behavior during lunch: the Youth Physical Activity and Nutrition Survey, *J Am Diet Assoc*, **110(10)**, 1532 (2010).
5. Biddle S.J., Asare M. Physical activity and mental health in children and adolescents: a review of reviews, *Sports Med*; **45(11)**, 886 (2011).
6. Jeffrey Q., Bostic, Lauren J. Hart. Building Better Brains: Evidence-Based Interventions to Enhance Contemporary Schooling, *Child Adolesc Psychiatric Clin N Am*, **21**, 69 (2012).
7. Dragnea A., Bota A. The Theory of Motor Activities, *Bucharest: Didactic and Pedagogical Publishing House*, R. A., 136 (1999).
8. Albu A., Albu C. Perceptual-Motor at Age of Growth and Development, *Iasi: Publishing House Spiru Haret*, **91**, 103 (1999).
9. Cherng R. J., Chen J. J., Su F. C. Vestibular system in performance of standing balance of children and young adults under altering sensory conditions, *Percept. Motor Skills*, **92**, 1167 (2001).
10. Ferber-Viart C., Ionescu E., Morlet T., Froehlich P., Dubreuil C., Balance in healthy individuals assessed with Equitest: maturation and normative data for children and young adults, *J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, **71**, 1041(2007).
11. Skvortsov D. V. *Stabilometricheskoe issledovanie*, 176 („Maska“, Moscow, 2010).

УДК 57.024; 57.034; 611.81

ТЕСТ ПОРСОЛТА КАК ЛОНГИТЮДНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ДИНАМИКИ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КРЫС В МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО УМЕРЕННОГО СТРЕССА

Чайка А. В., Коношенко Е. В., Хусаинов Д. Р., Шахматова В. И.,

Можаровская И. А., Чертаев И. В.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: andrew.chajka@yandex.ru*

В статье анализируется ежедневное изменение поведения животных под воздействием хронического непредсказуемого умеренного стресса в 3-минутном тесте Порсолта. Установлено, что динамика времени иммобильности в группе «стресс» близка к той, что наблюдалась ранее в эксперименте с блокированием D₂-подобных рецепторов галоперидолом: присутствует начальный период (1–3 дни), период выраженных колебаний показателя (4–15 дни) и период затухания (16–21 дни). Это может говорить об общем биологическом субстрате регистрируемых процессов.

Ключевые слова: депрессия, хронический умеренный непредсказуемый стресс, тест Порсолта, D₂-рецепторы, галоперидол.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным ВОЗ, в мире около 350 миллионов людей страдает депрессией, которая приводит к серьезным проблемам со здоровьем, являясь главной причиной нетрудоспособности и общего ухудшения качества жизни населения по всему миру, оставив далеко позади диабет, мигрень, железодефицитную анемию, расстройства, вызванные употреблением алкоголя, тревожность, хронические болезни легких и прочие заболевания [1]. Важной особенностью депрессии является ее универсальность: от нее никто не застрахован, вне зависимости от возраста [2, 3], расы [4], социального статуса [5] и места работы [6, 7].

В соответствии с классическими представлениями главенствующая роль в патофизиологических механизмах депрессии принадлежит серотонину и норадреналину, что доказано многочисленными исследованиями [8–13]. Однако участие дофамина в развитии и течении тревожно-депрессивных расстройств изучено не так полно [14].

Хронический стресс уже достаточно давно стал ассоциироваться с рядом патологических состояний, таких, как болезни сердечно-сосудистой системы, язвообразование, повышенная восприимчивость к инфекции, а также психические расстройства, среди которых паника, тревожность и депрессия [15]. На сегодняшний день уже доподлинно известно, что хронический стресс является одной из основных

причин возникновения депрессивного синдрома, для которого характерно нарушение нормального функционирования центральной дофаминергической системы [16–19], что приводит к возникновению таких симптомов, как ангедония, тревожность, неophobia, снижение двигательной активности и т. д. [20–23]. Поэтому хронический непредсказуемый умеренный стресс является наиболее валидной и широко используемой моделью депрессии на животных [24, 25].

В современной литературе присутствуют убедительные доказательства вовлеченности биоритмов в патогенез депрессии [26–28] и наличия ритмических изменений в проявлении симптомов заболевания [29–31]. В то же время нами не было обнаружено работ, в которых бы в полной мере изучалась динамика депрессивных симптомов, более того, методический аппарат для подобных исследований в доклинике до конца не разработан. Поэтому мы предлагаем использовать ежедневно трехминутный тест Порсолта как один из вариантов для решения данной проблемы и ставим целью детально проанализировать полученные результаты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 30 беспородных крысах-самцах массой 200–250 г, разделенных на 3 выборки. Группа «стресс» (n=10) на протяжении 21 дня подвергалась хроническому непредсказуемому умеренному стрессу (табл. 1), группе «стресс+галоперидол» (n=10) в течение 24 дней (3 дня предварительного введения) ежедневно в 10:00 вводили внутривентриально селективный блокатор D₂-подобных рецепторов галоперидол (Мосхимфармпрепараты им. Н. А. Семашко, Россия) в дозе 2,5 мг/кг [32], разведенный в физрастворе, а контрольной (n=10) – физраствор в аналогичном объеме.

Таблица 1

План стресс-протокола

	Неделя 1	Неделя 2	Неделя 3
Стресс	1	5	9
	3	10	11
	6	4	4
	8	11	8
	7	2	6
	9	3	7
	2	5	1

Примечание:

1 – предъявление звуков хищников (30 мин.); 2 – белый шум (80 дБ, 2 ч.); 3 – пищевая депривация (14 ч.); 4 – удаление подстилки из клетки (14 ч.); 5 – включение освещения в ночное время; 6 – вкл/выкл яркого освещения (1000 люкс) днем каждые 20 мин. (2 ч); 7 – предъявление нового неизвестного объекта в домашней клетке (14 ч.); 8 – ограничение двигательной активности (1 ч); 9 – подсаживание в домашнюю клетку других крыс (2 шт, 1 час); 10 – водная депривация (14 ч.); 11 – перенаселение (14 ч.).

Стресс-стимулы были предъявлены в полуслучайном порядке дважды за 21-дневный период, за исключением водной депривации, применявшейся лишь однажды.

Начиная с 4-го дня эксперимента поведение животных ежедневно исследовали в тесте Порсолта через 30 мин. после инъекций. Установка данного теста представляет собой прозрачный цилиндр из оргстекла высотой 45 см и диаметром 20 см (НПК «Открытая наука», Россия). Цилиндр заполняли на 2/3 водой температурой $+22\pm 1$ °С. Длительность тестирования – 3 минуты (укороченная процедура) [33, 34]. Регистрировались следующие показатели: иммобильность (с), плавание (с), климбинг (с), а также груминг и отряхивания (шт.). Достоверность различий между группами определялась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки и теста множественных сравнений Данна.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По итогам проведенного исследования установлено, что хронический стресс приводит к достоверному увеличению времени пассивного плавания у крыс по сравнению с контролем в течение всего эксперимента (рис. 1).

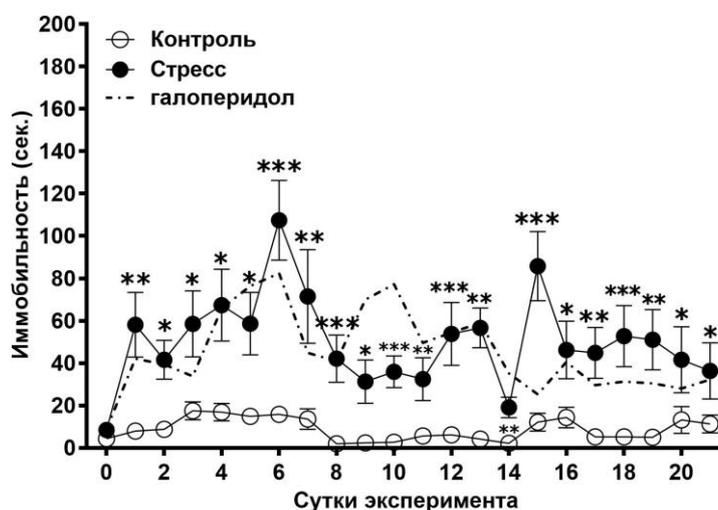


Рис. 1. Динамика времени иммобильности в группах «стресс», «контроль» и «галоперидол»

Примечание: звездочками отмечены достоверные отличия при $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$ между группами «контроль» и «стресс». Пунктирной линией указаны данные группы «галоперидол» из предыдущего эксперимента нашей лаборатории [35]

Пиковые значения показателя приходились на 6 ($107,40\pm 18,84$ с) и 15 сутки эксперимента ($77,80\pm 18,11$ с), минимальные – на 9 ($31,30\pm 10,19$ с), 11 ($34,20\pm 9,45$ с) и 14 ($19,10\pm 4,87$ с) сутки. Результаты группы «стресс+галоперидол» в течение первых 8 дней эксперимента значительно не отличались от данных группы «стресс» (за исключением первого дня), хотя и динамика имела иной, прямолинейный тренд,

однако с 9 дня эксперимента уровень иммобильности начинает резко возрастать и выходит на плато (пик на 20 день, $132,90 \pm 15,63$ с), после чего наблюдается стремительное снижение показателя на 21 день ($85,50 \pm 16,41$ с) (рис. 2).



Рис. 2. Динамика времени иммобильности в группах «стресс» и «стресс+галоперидол»

Примечание: звездочками отмечены достоверные отличия при $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$ относительно контроля

Различия в 21-дневной динамике показателей активного поведения оказались не столь очевидными: животные группы «стресс» демонстрировали уровень плавания, сходный с контролем, достоверные различия были выявлены только на 1 день эксперимента ($35,86 \pm 10,62$ против $98,83 \pm 13,1$ с); отличия между контролем и группой «стресс+галоперидол» – на 15–20 дни, а между группами «стресс» и «стресс+галоперидол» – на 14, 16–20 дни (рис. 3). В случае с климбингом статистически значимые различия были получены на 2, 6, 7, 10 дни между группами «контроль» и «стресс», а между группами «контроль» и «стресс+галоперидол» – на 10, 14, 18, 19 дни (рис. 4). Также были выявлены значимые различия и в суммарном количестве отряхиваний и груминга: между группами «контроль» и «стресс» – на 6, 9, 12, 21 сутки эксперимента, между группами «контроль» и «стресс+галоперидол» – на 18, 20 сутки, а между группами «стресс» и «стресс+галоперидол» – на 18 и 21 сутки (рис. 5)

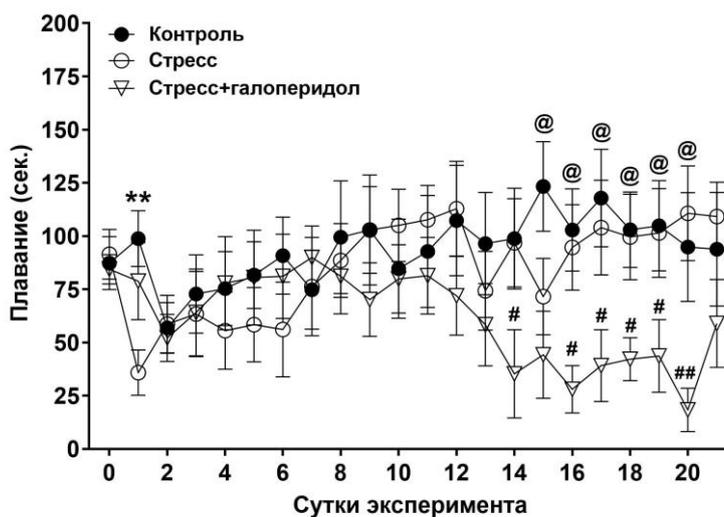


Рис. 3. Динамика времени плавания в исследуемых группах животных
 Примечание: отмечены достоверные отличия при $**p < 0,01$ между группами «контроль» и «стресс», при $@p < 0,05$ между группами «контроль» и «стресс+галоперидол», при $\#p < 0,05$ и при $\#\#p < 0,01$ между группами «стресс» и «стресс+галоперидол»

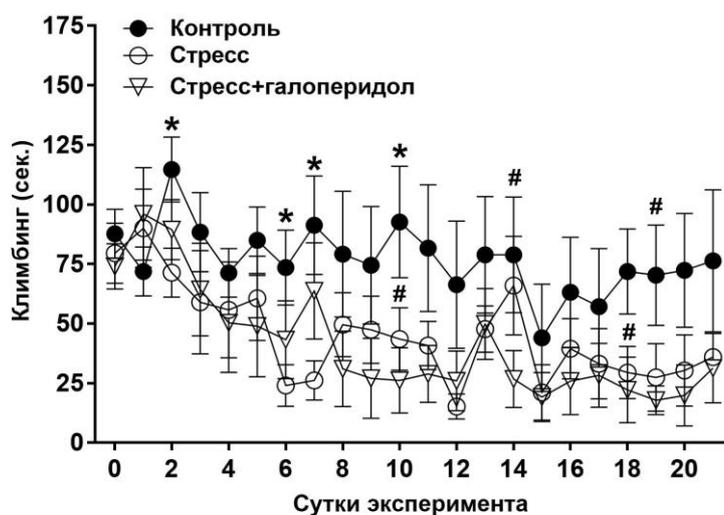


Рис. 4. Динамика времени климбинга в исследуемых группах животных
 Примечание: отмечены достоверные отличия при $p < 0,05$ между группами «контроль» и «стресс» (*), между группами «контроль» и «стресс+галоперидол» (#)

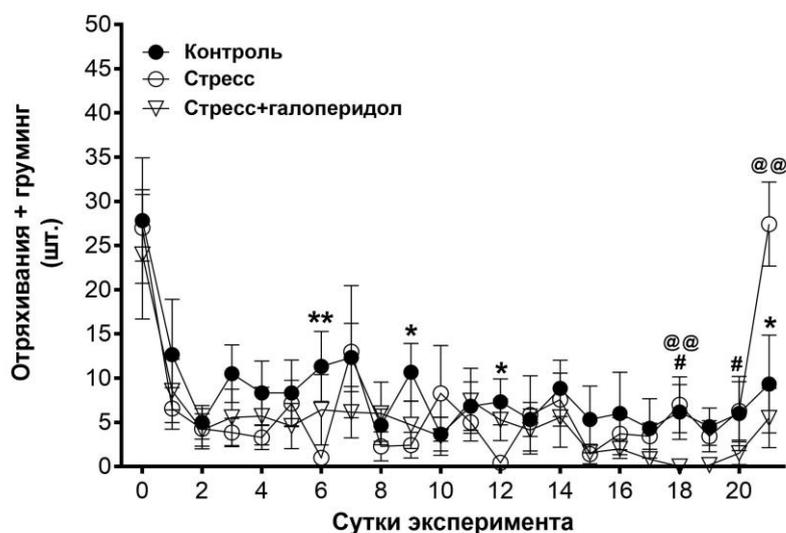


Рис. 5. Динамика количества отряхиваний и груминга у исследуемых животных
Примечание: отмечены достоверные отличия при * $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$ между группами «контроль» и «стресс», при # $p < 0,05$ между группами «контроль» и «стресс+галоперидол», при @ $p < 0,01$ между группами «стресс» и «стресс+галоперидол»

Тест Порсолта доказал свою эффективность как средство поиска антидепрессантов [36] и также успешно применяется для оценки депрессии как таковой, с фундаментальной точки зрения [27, 37–39]. Исследования S. Dal-Zotto и соавт. показали, что стресс, сообщаемый хроническим плаванием (14 дней по 20 мин.) в установке, разработанной Р. Д. Порсолтом, не является сильным и животные к нему хорошо адаптируются [40]. Принимая во внимание то обстоятельство, что мы используем данную методику в значительно более мягкой модификации (21 день по 3 мин.), считаем уровень стресса в этой процедуре несущественно влияющим на итоговый результат, что также подтверждает и стабильно низкий уровень иммобильности в контрольной группе (см. рис. 1). В итоге мы рассматриваем полученные данные как свидетельство того, что хронический непредсказуемый умеренный стресс приводит к возникновению депрессивноподобного поведения у беспородных крыс-самцов, что согласуется с литературными данными [41–44]. Наиболее ярко этот процесс характеризует время иммобильности. Дополнительные показатели (плавание, климбинг, отряхивания+груминг) в нашем случае имеют значительно большую вариабельность данных и, соответственно, меньшую надежность, чем иммобильность, но их изменение с течением эксперимента также указывает на ухудшение эмоционального состояния животных в группах «стресс» и «стресс+галоперидол». Несмотря на то, что достоверных отличий между группами больше всего по показателю «плавание», именно климбинг оказался чувствительнее в регистрации ответа на стресс-воздействия у грызунов, т. к. в обеих группах

наблюдается четкий тренд к снижению его уровня ото дня ко дню, в отличие от контрольных значений, что держатся на достаточно стабильном уровне (см. рис. 4). В Тесте Порсолта, хотя и кажется на первый взгляд, что есть один основной показатель – пассивное плавание, именно детальное рассмотрение каждого из возможных типов поведения в данной установке позволит наиболее полно и точно понять полученные результаты. Такая практика уже давно применяется в других экспериментальных парадигмах, например, «резидент – интродер», где регистрируется большое количество показателей [45]. Мы поддерживаем инициативу некоторых исследователей схожим комплексным образом оценивать и результаты теста Порсолта [46, 47].

Динамика времени иммобильности в группе «стресс» существенно не отличается от таковой, что была получена нашей лабораторией в предыдущем эксперименте, где использовался только галоперидол в дозе 2,5 мг/кг (см. рис. 1) [35]: в данном случае также можно выделить начальный период (1–3 дни), период выраженных колебаний показателя (4–15 дни) и период затухания (16–21 дни). Однако стоит отметить, что начальный период в группе «стресс» характеризуется более высоким уровнем иммобильности и более резким ее увеличением с первого дня эксперимента, чем в группе «галоперидол». Это и прочие отличия с группой «галоперидол», такие, как неполное совпадение максимумов значений (в особенности на 9 и 10 дни) и менее четкая и последовательная структура колебаний, мы связываем с разным характером стресс-стимулов – психическим и фармакологическим, соответственно.

Несколько иная ситуация наблюдается при совместном воздействии стресса и галоперидола, где, в отличие от групп «стресс» и «галоперидол», в первый день эксперимента не наблюдается увеличения пассивного плавания у животных: данные остаются на уровне контрольных, и в последующие 7 дней достоверно не отличаются от группы «стресс», демонстрируя даже более низкую линию тренда (см. рис. 2). Однако уже на 9 день эксперимента показатель в группе «стресс+галоперидол» статистически значимо превышал значения группы «стресс» ($81,80 \pm 15,16$ против $31,30 \pm 10,19$ с), а с 14 дня резко увеличиваются ($116,5 \pm 16,88$ против $19,1 \pm 4,87$ с). Мы предполагаем, что в данном случае адаптационный процесс протекает по-другому, т. к. сочетанное применение сразу двух стрессоров незамедлительно включает компенсаторные механизмы, которые до определенного момента удерживают уровень иммобильности даже ниже такового у группы «стресс». По-видимому, их истощение и приводит к той картине, что мы наблюдаем на 14–20 дни исследования, а значительный спад уровня пассивного плавания на 21-й день, возможно, предвосхищает начало нового витка адаптации.

21-дневный период является классическим временным отрезком, применяемым для определения влияния хронического стресса на организм, например для формирования депрессивного состояния у лабораторных животных [48, 49]. В то же время результаты наших исследований наглядно показали, что к окончанию данного периода у крыс вырабатывается адаптация к стресс-воздействиям различного характера, обеспеченная эффективной работой компенсаторных механизмов («стадия устойчивости» по Г. Селье) [50], в том числе и конкретно

дофаминергической системы [35]. К подобным выводам пришли и М. Ю. Ходанович с соавт., исследуя 3-недельную динамику агрессивного поведения у крыс, используя в качестве стрессора электромагнитное экранирование [51]. Вследствие этого можно заключить, что 21-дневный период является неким универсальным отрезком времени, необходимым для приспособления организма к новым условиям среды. Данный факт по-новому заставляет посмотреть на планирование экспериментов по длительному воздействию стресса на лабораторных животных и проблему плохой воспроизводимости научных результатов [52]. По крайней мере, это утверждение правомочно для аутбредных крыс и требует перепроверки на других породах грызунов.

Эффективность антидепрессантных агентов в доклинических экспериментальных тест-системах принято проверять в ключевые дни, зачастую еженедельно [25, 53] либо по схеме «до – после» [54], не учитывая ежедневную динамику симптомов. Подобные исследования характерны скорее для клиники и практически не имеют аналогов в работе с лабораторными животными. Учет того, как конкретные методы лечения депрессии воздействуют не только количественно в определенные дни, но и качественно на динамику симптомов заболевания в целом, позволит увидеть картину в общем, лучше подбирать антидепрессанты и прогнозировать их эффективность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Хронический непредсказуемый умеренный стресс приводит к возникновению депрессивноподобного поведения у беспородных крыс-самцов, ярко проявляющегося в увеличении уровня иммобильности и снижении времени климбинга в тесте Порсолта по сравнению с контрольной группой.
2. Динамика времени пассивного плавания в группе «стресс» существенно не отличается от таковой, что была получена нашей лабораторией в предыдущем эксперименте, где применялась блокада D₂-подобных рецепторов галоперидолом, что может свидетельствовать об общем биологическом субстрате протекаемых процессов.
3. Трехминутный тест Порсолта является многообещающим инструментом для ежедневной оценки депрессивного поведения у крыс в течение хронического эксперимента, однако, требует дальнейшей более обстоятельной валидации.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» «Экспериментальная физиология и биофизика».

Список литературы

1. Smith K. Mental health: a world of depression / K. Smith // Nature News. – 2014. – Vol. 515, № 7526. – P. 181–182.
2. Kim O. Sex differences in social support, loneliness, and depression among Korean college students / O. Kim // Psychological Reports. – 2001. – Vol. 88, № 2. – P. 521–526.

3. Briggs R. What is the Prevalence of Untreated Depression and Death Ideation in Older People? Data from Tilda / R. Briggs, R. A. Kenny, S. Kennelly // *Age and Ageing*. – 2017. – Vol. 46, Supp. 3. – P. iii13.
4. Lin K. M. Biological differences in depression and anxiety across races and ethnic groups / K. M. Lin // *The Journal of clinical psychiatry*. – 2001. – Vol. 62, № 13. – P. 13–19
5. Niedzwiedz C. L. The relationship between wealth and loneliness among older people across Europe: Is social participation protective? / C. L. Niedzwiedz, E. A. Richardson, H. Tunstall [et al.] // *Preventive medicine*. – 2016. – Vol. 91. – P. 24–31.
6. Bonde J. P. E. Psychosocial factors at work and risk of depression: a systematic review of the epidemiological evidence / J. P. E. Bonde // *Occupational and environmental medicine*. – 2008. – Vol. 65, № 7. – P. 438–445.
7. Ребко А. А. Распространенность признаков тревожности и депрессии у военнослужащих срочной военной службы / А. А. Ребко, В. Я. Латышева // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2012. – № 2 (32). – С. 92–95.
8. Berton O. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines / O. Berton, E. J. Nestler // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2006. – Vol. 7, № 2. – P. 137–151.
9. Pittenger C. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms / C. Pittenger, R. S. Duman // *Neuropsychopharmacology*. – 2008. – Vol. 33, № 1. – P. 88–109.
10. Baffa A. Norepinephrine and serotonin transporter genes: impact on treatment response in depression / A. Baffa, C. Hohoff, B. T. Baune [et al.] // *Neuropsychobiology*. – 2010. – Vol. 62, No 2. – P. 121–131.
11. Бахшалиева А. Я. Особенности развития депрессивного состояния у крыс с различным индивидуально-типологическим поведенческим статусом / А. Я. Бахшалиева // *Нейрофизиология*. – 2010. – Т. 42, № 2. – С. 153–161.
12. Левчук Л. А. Серотонинергическая система в патогенезе и терапии депрессивных расстройств (обзор литературы) / Л. А. Левчук, М. В. Шмиголь, Р. А. Иванова // *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. – 2012. – № 2. – С. 75–79.
13. Григорьян Г. А. Молекулярно-клеточные механизмы депрессии. Роль глюкокортикоидов, цитокинов, нейротрансмиттеров и трофических факторов в генезе депрессивных расстройств / Г. А. Григорьян, Н. Н. Дыгало, А. Б. Гехт [и др.] // *Успехи физиологических наук*. – 2014. – Т. 45, № 2. – С. 3–19.
14. Федотова Ю. О. Дофаминовые D₂-рецепторы и тревожно-депрессивноподобное поведение самок крыс / Ю. О. Федотова // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2012. – Т. 75, № 2. – С. 3–6.
15. Melia K. R. Induction and habituation of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress / K. R. Melia, A. E. Ryabinin, R. Schroeder [et al.] // *Journal of Neuroscience*. – 1994. – Vol. 14, No 10. – P. 5929–5938.
16. Dunlop B. W. The role of dopamine in the pathophysiology of depression / B. W. Dunlop, C. B. Nemeroff // *Archives of general psychiatry*. – 2007. – Vol. 64, No 3. – P. 327–337.
17. Lucas L. R. Effects of immobilization stress on neurochemical markers in the motivational system of the male rat / L. R. Lucas, C. J. Wang, T. J. McCall [et al.] // *Brain research*. – 2007. – Vol. 1155. – P. 108–115.
18. Tye K. M. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour / K. M. Tye, J. J. Mirzabekov, M. R. Warden [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 493, No 7433. – P. 537.
19. Francis T. C. Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress / T. C. Francis, R. Chandra, D. M. Friend [et al.] // *Biological psychiatry*. – 2015. – Vol. 77, No 3. – P. 212–222.
20. Willner P. The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action / P. Willner // *International Clinical Psychopharmacology*. – 1997. – Vol. 12. – P. 7–14.
21. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation / P. Willner // *Psychopharmacology*. – 1997. – Vol. 134, No 4. – P. 319–329.
22. Gambarana C. A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the nucleus accumbens: a microdialysis study / C. Gambarana, F. Masi, A. Tagliamonte [et al.] // *Journal of neurochemistry*. – 1999. – Vol. 72, No 5. – P. 2039–2046.
23. Loonen A. J. M. Circuits regulating pleasure and happiness in major depression / A. J. M. Loonen, S. A. Ivanova // *Medical hypotheses*. – 2016. – Vol. 87. – P. 14–21.

24. Willner P. Animal models of depression: a diathesis/stress approach / P. Willner, P. J. Mitchell / H. D'haenen, J. A. den Boer and P. Willner (eds.) // *Biological psychiatry*. – Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2002. – P. 701–726.
25. Wang J. M. BDNF and COX-2 participate in anti-depressive mechanisms of catalpol in rats undergoing chronic unpredictable mild stress / J. M. Wang, L. H. Yang, Y. Y. Zhang [et al.] // *Physiology & behavior*. – 2015. – Vol. 151. – P. 360–368
26. Bunney J. N. Circadian abnormalities, molecular clock genes and chronobiological treatments in depression / J. N. Bunney, S. G. Potkin // *British medical bulletin*. – 2008. – Vol. 86, No 1. – P. 23–32.
27. Leach G. Depression-like responses induced by daytime light deficiency in the diurnal grass rat (*Arvicanthis niloticus*) / G. Leach, W. Adidharma, L. Yan // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 2. – P. e57115.
28. Logan R. W. Chronic stress induces brain region-specific alterations of molecular rhythms that correlate with depression-like behavior in mice / R. W. Logan, N. Edgar, A. G. Gillman [et al.] // *Biological psychiatry*. – 2015. – Vol. 78, No 4. – P. 249–258.
29. Nutt D. J. Depression, anxiety and the mixed conditions / D. J. Nutt, C. Bell, J. Potokar. – London: Martin Dunitz. 1997. – 72 pp.
30. Минутко В. Л. Депрессия / В. Л. Минутко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 320 с.
31. Тювина Н. А. Сравнительная характеристика клинических особенностей депрессии при биполярном аффективном расстройстве I и II типа / Н. А. Тювина, И. Г. Коробкова // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 22–28
32. Фролова Г. А. Индивидуальная чувствительность к блокированию D₂-рецепторов: изменение временной динамики поведения белых крыс в открытом поле / Г. А. Фролова, И. В. Мельникова, Р. А. Богданова // *Світ медицини та біології*. – 2009. – Т. 5, № 4. – С. 61–65.
33. Калуев А. В. Стресс, тревожность и поведение / А. В. Калуев – Киев: Энигма, 1998. – 95 с.
34. Фролова Г. А. Этологические эффекты антиэстрогенного и антиандрогенного воздействия на самок и самцов белых крыс, отличающихся по уровню депрессивности / Г. А. Фролова // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. – 2016. – № 4. – С. 110–116.
35. Чайка А. В. Хроническая блокада D₂-рецепторов и поведение низкодепрессивных крыс / А. В. Чайка, Д. Р. Хусаинов, И. В. Черетаев [и др.] // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2017. – Т. 103, № 2. – P. 172–181.
36. Castagné V. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice / V. Castagné, P. Moser, S. Roux // *Curr Protoc Neurosci*. – 2010. – Vol. 49 (5.8.1-5.8.14). – P. 1–8.
37. Naitoh H. “Swimming-induced head twitching” in rats in the forced swimming test induced by overcrowding stress: a new marker in the animal model of depression? / H. Naitoh, S. Nomura, Y. Kunimi [et al.] // *The Keio journal of medicine*. – 1992. – Vol. 41, No 4. – P. 221–224.
38. Brenes J. C. A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats / J. C. Brenes, M. Padilla, J. Fornaguera // *Behavioural brain research*. – 2009. – Vol. 197, No 1. – P. 125–137.
39. Iijima M. Pharmacological characterization of repeated corticosterone injection-induced depression model in rats / M. Iijima, A. Ito, S. Kurosu [et al.] // *Brain research*. – 2010. – Vol. 1359. – P. 75–80.
40. Dal-Zotto S. Influence of single or repeated experience of rats with forced swimming on behavioural and physiological responses to the stressor / S. Dal-Zotto, O. Martí, A. Armario // *Behavioural brain research*. – 2000. – Vol. 114, No 1. – P. 175–181.
41. Rygula R. Pharmacological validation of a chronic social stress model of depression in rats: effects of reboxetine, haloperidol and diazepam / R. Rygula, N. Abumaria, U. Havemann-Reinecke [et al.] // *Behavioural pharmacology*. – 2008. – Vol. 19, No 3. – P. 183–196.
42. Kompagne H. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats / H. Kompagne, G. Bárdos, G. Szénási [et al.] // *Behavioural brain research*. – 2008. – Vol. 193, № 2. – P. 311–314.
43. Yang J. Enhanced antidepressant-like effects of electroacupuncture combined with citalopram in a rat model of depression / J. Yang, Y. Pei, Y. L. Pan [et al.] // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – 2013. – Vol. 2013, Article ID 107380. – P. 1–12.

44. Kafetzopoulos V. The nucleus reuniens: a key node in the neurocircuitry of stress and depression / V. Kafetzopoulos, N. Kokras, I. Sotiropoulos [et al.] // *Molecular psychiatry*. – 2018. – Vol. 23, No 3. – P. 579.
45. de Boer S. F. 5-HT 1A and 5-HT 1B receptor agonists and aggression: a pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis / S. F. de Boer, J. M. Koolhaas // *European journal of pharmacology*. – 2005. – Vol. 526, No 1. – P. 125–139.
46. Detke M. J. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants / M. J. Detke, M. Rickels, I. Lucki // *Psychopharmacology*. – 1995. – Vol. 121, No 1. – P. 66–72.
47. Белозерцева И. В. Проблема повторяемости и воспроизводимости данных в свете эволюции экспериментального метода / И. В. Белозерцева // Семинар FarmBioLine: Доклинические исследования. Современные тенденции и проблемы. GLP в виварии. Москва, 30 марта 2016 г. – 31 слайд. Режим доступа к публикации: <http://docplayer.ru/29223082-Problema-povtoryaemosti-i-vosproizvodimosti-dannyh-v-svete-evolyucii-eksperimentalnogo-metoda.html> (Дата обращения: 25.04.2018).
48. Katz R. J. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit / R. J. Katz // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1982. – Vol. 16, No 6. – P. 965–968.
49. Ducotet C. Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice / C. Ducotet, G. Griebel, C. Belzung // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. – 2003. – Vol. 27, No 4. – P. 625–631.
50. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М: Медгиз, 1960. – 254 с.
51. Ходанович М. Ю. Влияние длительного ослабления геомагнитного поля на агрессивность лабораторных крыс и активацию опиоидергических нейронов / М. Ю. Ходанович, Е. В. Гуль, А. Е. Зеленская [и др.] // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. – 2013. – № 1 (21). – С. 146–160.
52. Lithgow G. J. A long journey to reproducible results / G. J. Lithgow, M. Driscoll, P. Phillips // *Nature News*. – 2017. – Vol. 548, No 7668. – P. 387.
53. Haraguchi A. Night eating model shows time-specific depression-like behavior in the forced swimming test / A. Haraguchi, M. Fukuzawa, S. Iwami [et al.] // *Scientific reports*. – 2018. – Vol. 8, No 1. – P. 1081.
54. Guo J. Y. Chronic treatment with celecoxib reverses chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior via reducing cyclooxygenase-2 expression in rat brain / J. Y. Guo, C. Y. Li, Y. P. Ruan [et al.] // *European journal of pharmacology*. – 2009. – Vol. 612, No 1–3. – P. 54–60.

FORCED SWIM TEST AS A LONGITUDE METHOD OF ASSESSMENT THE DYNAMICS OF THE EMOTIONAL STATE OF RATS IN THE MODEL OF CHRONIC UNPREDICTABLE MILD STRESS

Chajka A. V., Konoshenko E. V., Khusainov D. R., Shakhmatova V. I., Mozharovskaya I. A., Cheretaev I. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: andrew.chajka@yandex.ru*

According to WHO, in the world, about 350 million people suffer from depression, which leads to serious health problems, being the main cause of disability and a general deterioration in the quality of life of the population around the world. To date, it is already known for sure that chronic stress is one of the main causes of the depressive syndrome, which is characterized by a disruption of the normal functioning of the central dopaminergic system. However, the involvement of dopamine in the development and

course of anxiety-depressive disorders has not been studied as fully as, for example, serotonin.

In the modern literature there are convincing evidence of the involvement of biorhythms in the pathogenesis of depression and the presence of rhythmic changes in the manifestation of the symptoms of the disease. At the same time, we did not find any work in which the dynamics of depressive symptoms were fully studied, moreover, the methodological approach for such preclinical studies was not fully developed. Therefore, we propose to use the daily three-minute Forced swim test (FST) as one of the options for solving this problem, and we aim to analyze the results in detail.

Experiments were carried out on 30 outbred male rats (200–250 g), divided into 3 groups. The stress group (n = 10) underwent chronic unpredictable mild stress for 21 days, the «stress+haloperidol» group (n = 10) for 24 days (3 days of preliminary administration) daily at 10:00 injected intraperitoneally a selective blocker of D₂-like receptors haloperidol (Moshimfarmpreparaty N. A. Semashko, Russia) at a dose of 2.5 mg/kg, diluted in saline, and control (n = 10) - saline in a similar volume. Beginning on the 4th day of the experiment, the behavior of the animals was tested daily in the FST, 30 minutes after the injections. Duration of testing – 3 minutes (short procedure). The following indicators were recorded: passive swimming, swimming, climbing, and grooming+shaking. Differences between the groups was determined using a single-factor analysis of variance (ANOVA) with the Tukey test and the Dunn's multiple comparisons test.

The FST has proven to be effective in detecting antidepressants, and has also been used successfully to assess depression as such, from a fundamental point of view. Research by S. Dal-Zotto et al. showed that the stress reported by chronic swimming (14 days for 20 minutes) in the installation developed by R. D. Porsolt is not strong and the animals adapt well to it. Considering the fact that we use this technique in a much milder modification (day 21 for 3 minutes), we believe that the level of stress in this procedure has little effect on the final result, which is also confirmed by the consistently low level of immobility in the control group.

Eventually, established that chronic unpredictable mild stress leads to depressive behavior in outbred male rats, which is clearly manifested in an increase in the level of immobility and a decrease in the climbing time in the FST in comparison with the control group. The dynamics of the passive swimming time in the stress group does not differ significantly from that obtained by our laboratory in the previous experiment, where the blockade of D₂-like receptors with haloperidol was applied, which may indicate a common biological substrate of the processes that are being carried out.

A different situation is observed in the joint effect of stress and haloperidol, where, in contrast to the groups "stress" and "haloperidol", in the first day of the experiment there is no increase in passive swimming in animals - the data remain at the control level, and in the next 7 days differ from the "stress" group wasn't found, showing even a lower trend line. However, already on the 9th day of the experiment, the data of the "stress+haloperidol" group begin to statistically significantly exceed the level of the "stress" group (81.80 ± 15.16 versus 31.30 ± 10.19 s), and from the 14th day increase sharply (116.5 ± 16.88 against 19.1 ± 4.87 s). We assume that in this case the adaptation

process proceeds in a different way, because the combined use of two stressors immediately includes compensatory mechanisms that, until a certain moment, keep the level of immobility even lower than that of the "stress" group. Apparently, their depletion leads to the picture that we see on the 14–20 days of the study, and a significant decline in the level of passive navigation on the 21st day may be anticipating the beginning of a new round of adaptation.

Referring to all these data, we believe that the 3-minute FST is a promising tool for daily assessment of depressive behavior in rats during a chronic experiment, but requires further validation.

Keywords: depression, chronic mild unpredictable stress, Forced swim test, D₂-receptors, haloperidol.

References

1. Smith K. Mental health: a world of depression, *Nature News*, **515** (7526), 180 (2014).
2. Kim O. Sex differences in social support, loneliness, and depression among Korean college students, *Psychological Reports*, **88**(2), 521 (2001).
3. Briggs R., Tobin K., Kenny R. A., & Kennelly S. P. What is the prevalence of untreated depression and death ideation in older people? Data from the Irish Longitudinal Study on Aging, *International psychogeriatrics*, **46** (3), 13 (2017).
4. Lin K. M. Biological differences in depression and anxiety across races and ethnic groups, *The Journal of clinical psychiatry*, **62**, 13 (2001).
5. Niedzwiedz C. L., Richardson E. A., Tunstall H., Shortt N. K., Mitchell R. J., & Pearce J. R. The relationship between wealth and loneliness among older people across Europe: Is social participation protective? *Preventive medicine*, **91**, 24 (2016).
6. Bonde J. P. E. Psychosocial factors at work and risk of depression: a systematic review of the epidemiological evidence, *Occupational and environmental medicine*, **65**(7), 438 (2008).
7. Rebko A. A., Latysheva V. Ya. Prevalence rate of anxiety and depression signs in national servicemen, *Problemy zdorov'ya i ekologii*, **2** (32), 92 (2012).
8. Berton O., & Nestler E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines, *Nature Reviews Neuroscience*, **7**(2), 137 (2006).
9. Pittenger C., & Duman R. S. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms, *Neuropsychopharmacology*, **33**(1), 88 (2008).
10. Bakhshalieva A. Ya. Peculiarities of depressive state development in rats with different individual-typological behavioral state, *Neurophysiology*, **42** (2), 153 (2010).
11. Baffa A., Hohoff C., Baune B. T., Müller-Tidow C., Tidow N., Freitag C. & Domschke K. Norepinephrine and serotonin transporter genes: impact on treatment response in depression, *Neuropsychobiology*, **62**(2), 121 (2010).
12. Levchuk L. A., Shmigol M. V., Ivanova S. A. Serotonergic system in pathogenesis and therapy of depressive disorders (review), *Siberian gerald of psychiatry and addiction psychiatry*, **2**, 75 (2012).
13. Grigoryan G. A., Dygalo N. N., Guekht A. B., Stepanichev M. Yu., Gulyaeva N. V. Molecular and cellular mechanisms of depression. Role of glucocorticoids, cytokines, neurotransmitters, and trophic factors in genesis depressive disorders, *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, **45** (2), 3 (2014).
14. Fedotova Yu. O. D₂-type dopaminergic receptors and anxiety-depression-like behavior in female rats, *Experimental and clinical pharmacology*, **75** (2), 3 (2012).
15. Melia K. R., Ryabinin A. E., Schroeder R., Bloom F. E., & Wilson M. C. Induction and habituation of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress, *Journal of Neuroscience*, **14**(10), 5929-5938 (1994).
16. Dunlop B. W., & Nemeroff C. B. The role of dopamine in the pathophysiology of depression, *Archives of general psychiatry*, **64**(3), 327 (2007).
17. Lucas L. R., Wang C. J., McCall T. J., & McEwen B. S. Effects of immobilization stress on neurochemical markers in the motivational system of the male rat, *Brain research*, **1155**, 108 (2007).

18. Tye K. M., Mirzabekov J. J., Warden M. R., Ferenczi E. A., Tsai H. C., Finkelstein J. & Gunaydin L. A. Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour, *Nature*, **493(7433)**, 537 (2013).
19. Francis T. C., Chandra R., Friend D. M., Finkel E., Dayrit G., Miranda J. & Lobo M. K. Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress, *Biological psychiatry*, **77(3)**, 212 (2015).
20. Willner P. The mesolimbic dopamine system as a target for rapid antidepressant action. *International Clinical Psychopharmacology*, **12** (Suppl 3), 7 (1997).
21. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation, *Psychopharmacology*, **134(4)**, 319 (1997).
22. Gambarana C., Masi F., Tagliamonte A., Schegg S., Ghiglieri O., & Graziella De Montis M. A chronic stress that impairs reactivity in rats also decreases dopaminergic transmission in the nucleus accumbens: a microdialysis study, *Journal of neurochemistry*, **72(5)**, 2039 (1999).
23. Looen A. J. M., & Ivanova S. A. Circuits regulating pleasure and happiness in major depression, *Medical hypotheses*, **87**, 14 (2016).
24. Willner P., Mitchell P. J. *Animal models of depression: a diathesis/stress approach* In: H. D'haenen, J. A. den Boer and P. Willner (eds.) *Biological psychiatry*. (Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2002), 701 (2002).
25. Wang J. M., Yang L. H., Zhang Y. Y., Niu C. L., Cui Y., Feng W. S., & Wang G. F. BDNF and COX-2 participate in anti-depressive mechanisms of catalpol in rats undergoing chronic unpredictable mild stress, *Physiology & behavior*, **151**, 360 (2015).
26. Bunney J. N., & Potkin S. G. Circadian abnormalities, molecular clock genes and chronobiological treatments in depression, *British medical bulletin*, **86(1)**, 23 (2008).
27. Leach G., Adidharma W., & Yan L. Depression-like responses induced by daytime light deficiency in the diurnal grass rat (*Arvicanthis niloticus*), *PLoS One*, **8(2)**, e57115. (2013).
28. Logan R. W., Edgar N., Gillman A. G., Hoffman D., Zhu X., & McClung C. A. Chronic stress induces brain region-specific alterations of molecular rhythms that correlate with depression-like behavior in mice, *Biological psychiatry*, **78(4)**, 249 (2015).
29. Nutt D. J., Bell C., Potokar J. *Depression, anxiety and the mixed conditions*, 72 p. (London: Martin Dunitz, 1997).
30. Minutko V. L. *Depression*, 320 p. (GEOTAR-Media, Moscow, 2006).
31. Tyuvina N. A., Korobkova I. G. Comparative clinical characteristics of depression in bipolar affective disorders types I and II. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics*, **8(1)**, 22 (2016).
32. Frolova G., Melnikova I., Bogdanova S. Individual sensitiveness to blocking of D2-receptor: a dynamics change of white rats behavior in the opened field, *World of Medicine and Biology*, **5 (4)**, 61 (2009).
33. Kalueff A. V. *Stress, anxiety and behavior*, 95 p. (Kyiv: Enigma, 1998).
34. Frolova G. A. Comparative ethological characteristics of males and females of white rats in porsolt test in blocking receptors of sex hormone, *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, **4**, 110 (2016).
35. Chajka A. V., Khusainov D. R., Cheretaev I. V., Koreniuk I. I., Nozdrachev A. D. Chronic D 2 -receptor blockade and behavior of low depressive rats, *Russian journal of physiology*, **103 (2)**, 172 (2017).
36. Castagné V., Moser P., Roux S., & Porsolt R. D. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice, *Current Protocols in Pharmacology*, **49**, 1 (2010).
37. Naitoh H., Nomura S., Kunimi Y., & Yamaoka K. "Swimming-induced head twitching" in rats in the forced swimming test induced by overcrowding stress: a new marker in the animal model of depression? *The Keio journal of medicine*, **41(4)**, 221 (1992).
38. Brenes J. C., Padilla M., & Fornaguera J. A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats, *Behavioural Brain Research*, **197(1)**, 125 (2009).
39. Iijima M., Ito A., Kurosu S., & Chaki S. Pharmacological characterization of repeated corticosterone injection-induced depression model in rats, *Brain research*, **1359**, 75 (2010).
40. Dal-Zotto S., Martí O., & Armario A. Influence of single or repeated experience of rats with forced swimming on behavioural and physiological responses to the stressor, *Behavioural brain research*, **114 (1-2)**, 175 (2000).

41. Rygula R., Abumaria N., Havemann-Reinecke U., Rütther E., Hiemke C., Zernig G. & Flügge G. Pharmacological validation of a chronic social stress model of depression in rats: effects of reboxetine, haloperidol and diazepam, *Behavioural pharmacology*, **19**(3), 183 (2008).
42. Kompagne H., Bárdos G., Szénási G., Gacsályi I., Hársing L. G., & Lévy G. Chronic mild stress generates clear depressive but ambiguous anxiety-like behaviour in rats, *Behavioural brain research*, **193**(2), 311 (2008).
43. Yang J., Pei Y., Pan Y. L., Jia J., Shi C., Yu Y., ... & Wang X. M. Enhanced antidepressant-like effects of electroacupuncture combined with citalopram in a rat model of depression. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2013** (107380), 1 (2013).
44. Kafetzopoulos V., Kokras N., Sotiropoulos I., Oliveira J. F., Leite-Almeida H., Vasalou A. & Sousa N. The nucleus reuniens: a key node in the neurocircuitry of stress and depression, *Molecular psychiatry*, **23**(3), 579 (2018).
45. de Boer S. F., & Koolhaas J. M. 5-HT1A and 5-HT1B receptor agonists and aggression: a pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis, *European journal of pharmacology*, **526**(1-3), 125 (2005).
46. Detke M. J., Rickels M., & Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants, *Psychopharmacology*, **121**(1), 66 (1995).
47. Belozertseva I. V. The problem of repeatability and reproducibility of data in the light of the evolution of the experimental method. *Seminar FarmBioLine: Preclinical research. Modern trends and problems. GLP in the vivarium*. Moscow, March 30, 2016. 31 slides. URL: <http://docplayer.ru/29223082-Problema-povtoryaemosti-i-vozproizvodimosti-dannyh-v-svete-evolyucii-eksperimentalnogo-metoda.html>
48. Katz R. J. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **16**(6), 965 (1982).
49. Ducottet C., Griebel G., & Belzung C. Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **27**(4), 625 (2003).
50. Selye H. *The story of the adaptation syndrome*, 254 p. (Medgiz, Moscow, 1960).
51. Khodanovich M. U., Gul E. V., Zelenskaya A. E., Pan E. S., Krivova N. A. Effect of long-term weakening of the geomagnetic field on the aggressiveness of laboratory rats and activation of opioidergic neurons, *Bulletin of the Tomsk State University. Biology*, **1**(21), 146 (2013).
52. Lithgow G. J., Driscoll M., & Phillips P. A long journey to reproducible results, *Nature News*, **548** (7668), 387 (2017).
53. Haraguchi A., Fukuzawa M., Iwami S., Nishimura Y., Motohashi H., Tahara Y., & Shibata S. Night eating model shows time-specific depression-like behavior in the forced swimming test, *Scientific reports*, **8**(1), 1081 (2018).
54. Guo J. Y., Li C. Y., Ruan Y. P., Sun M., Qi X. L., Zhao B. S., & Luo F. Chronic treatment with celecoxib reverses chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior via reducing cyclooxygenase-2 expression in rat brain, *European journal of pharmacology*, **612** (1-3), 54 (2009).

УДК 594.124:577.1(262.5)

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО
СОСТОЯНИЯ АКВАТОРИЙ В РАЙОНАХ РАЗМЕЩЕНИЯ МАРИХОЗЯЙСТВ
(СЕВАСТОПОЛЬ, ЧЕРНОЕ МОРЕ)**

Челядина Н. С., Попов М. А.

*Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН, Севастополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: chelydina2007@mail.ru*

Мидию *Mytilus galloprovincialis* использовали как биоиндикатор состояния окружающей водной среды в районах размещения марихозяйств. Изменение соотношения фенотипов, половой структуры и морфометрических характеристик применяли как косвенные показатели, отражающие уровень экологической комфортности культивируемых мидий. В акватории, подверженной загрязнению, отмечены больший процент мидий с черной окраски раковины (77 %) и сдвиг половой структуры в сторону увеличения количества самцов (78 %). Индекс Н/Л раковин мидий был выше у моллюсков из акватории с повышенной техногенной нагрузкой.

Ключевые слова: Черное море, мидия *Mytilus galloprovincialis*, фен, пол, морфометрические параметры, мидийно-устричная ферма.

ВВЕДЕНИЕ

Рациональная организация промышленной конхиокультуры на Черном море возможна только на основе комплексного изучения биологии культивируемых видов, разработки практических рекомендаций по выбору мест размещения марихозяйств, оптимизации процесса культивирования, оценки взаимодействия окружающей среды и марихозяйств. Первостепенное значение при размещении мидийно-устричных ферм отводится выбору акватории. При этом важно учитывать физико-географические особенности района размещения, качество водной среды, кормовую базу, наличие достаточной концентрации личинок культивируемых моллюсков и т. д. [1, 2]. На функционирующих марихозяйствах необходимо учитывать взаимное влияние культивируемых гидробионтов и окружающей среды. Мониторинговые исследования биологии мидий на марихозяйствах косвенно отражают экологическое состояние акватории. Определены организмы, которые используются как биоиндикаторы состояния окружающей водной среды. По данным «International Council for the Exploration of the Sea», мидия *Mytilus* sp. входит в перечень этих видов-«мишеней» [3, 4].

Одним из средообразующих и культивируемых видов в Черном море является мидия *Mytilus galloprovincialis* Lam. Изменение соотношения фенотипов [5, 6], половой структуры [5, 7] и морфометрических [8] характеристик мидий является характерным откликом на загрязнение окружающей среды.

Цель работы – использовать мидию *M. galloprovincialis* как биоиндикатор окружающей среды при сравнении экологического состояния акваторий в местах размещения марихозийств в бухтах г. Севастополя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальную часть работы проводили в течение 2004–2007 гг. на мидийно-устричной ферме, расположенной на внешнем рейде г. Севастополя, и мидийной ферме в бухте Мартынова (рис. 1). Мидию *M. galloprovincialis* собирали посезонно с веревочных коллекторов с глубины 3 м. Для исследований отбирали 150 мидий. У моллюсков изучали морфометрические параметры, окраску раковины, пол. Окраску раковины моллюска определяли по методике, предложенной Драголи [9], который среди разнообразных форм окраски раковины выделял мидий с черной (Ч) и коричневой (К) окраской. Для определения пола использовали методику визуального изучения мазков гонад под бинокляром МБИ-6 [10]. При помощи штангенциркуля с точностью до 0,1 мм измеряли следующие параметры: L – длина, мм; Н – высота, мм; D – ширина, мм [8]. Для определения формы раковины применяли индексы отношений: высота створки к ее длине Н/L (вытянутость), ширина к длине D/L (выпуклость). Для обработки материала использовали пакет программ Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ферма внешнего рейда расположена западнее южного мола Севастопольской бухты в открытой части моря. Грунт под фермой – песок с включениями ила. Ферма хорошо «вентилируется» даже при незначительных ветро-волновых перемешиваниях. Мидийная ферма в бухте Мартыновой расположена в 200 метрах от кутовой части (рис. 1).

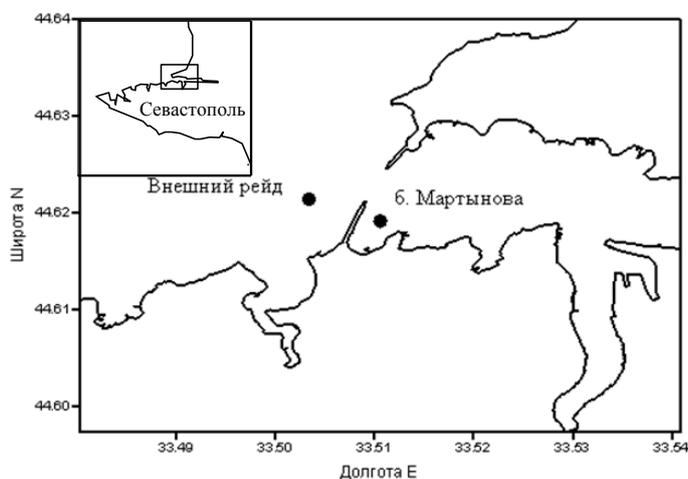


Рис. 1. Район расположения марихозийств

Грунт под фермой – топкий ил с характерным запахом сероводорода. В соответствии со значением PLI_{site} бухта Мартынова характеризуется как чрезвычайно загрязненная [11]. Акватория бухты периодически загрязняется нефтепродуктами [12].

До 2000-х годов у берегов Черного моря исследователи в большинстве случаев отмечали равное соотношение полов у мидии *M. galloprovincialis* – 1 : 1 (♀ : ♂) при 1–3 % гермафродитов.

При определении частоты встречаемости цветовых морф мидий отмечен больший процент моллюсков с черной окраской раковины в исследуемых районах независимо от сезона и года. На рисунке 2 представлены усредненные результаты фенотипической структуры культивируемых мидий за период исследования.

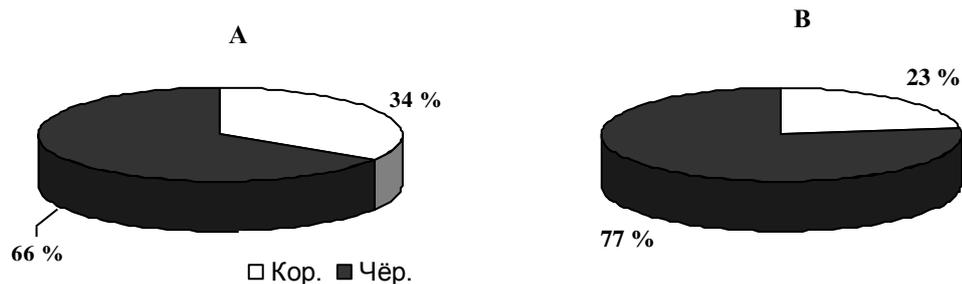


Рис. 2. Соотношение окраски раковины у мидии *M. galloprovincialis* (А – внешний рейд; В – б. Мартынова)

Соотношение коричневой окраски (К) раковины к черной (Ч) на внешнем рейде было 1 : 1,9 (К : Ч), в б. Мартыновой – 1 : 3,3 (К : Ч). Различные адаптивные реакции мидий с черной и коричневой окраской под воздействием среды обитания обусловлены генетическими особенностями и влияют на физиологические процессы. Черные мидии доминируют на скалах, коричневые – на илистых грунтах. Особи черной морфы населяют преимущественно твердые субстраты в прибойной зоне морских акваторий [1, 13]. Известно, что мидии оседают на коллекторы в равном соотношении фенотипов 1 : 1 (К : Ч) [14]. Ранее нами было показано [15], что соотношение особей с различной окраской раковины у *M. galloprovincialis* может меняться в зависимости от месторасположения мидийных ферм. По мере роста моллюсков на коллекторах количество особей с черной окраской раковины увеличивалось в акваториях с неблагоприятной экологической обстановкой и соотношение достигало 1 : 3,7 (К : Ч). Известно, что мидии с черной окраской раковины имеют более прочный биссусный аппарат, а мидии с коричневой окраской раковины более чувствительны к загрязнению воды [16]. По-видимому, при увеличении размеров моллюсков происходит опадание на дно мидий преимущественно с коричневой окраской раковины. В результате естественного отбора выживают наиболее приспособленные к данному местообитанию особи, а

изменение соотношения фенотипов можно рассматривать как характерный отклик мидийной популяции на изменения окружающей среды.

До 2000-х годов у берегов Черного моря исследователи в большинстве случаев отмечали равное соотношение полов у мидии *M. galloprovincialis* 1 : 1 (♀ : ♂) при 1–3 % гермафродитов [10, 17]. В более современных работах показан сдвиг половой структуры искусственных и природных поселений мидии как в сторону преобладания самцов, так и самок [5, 13, 18]. Известно, что соотношение самцов и самок в популяции мидий зависит как от генетических механизмов формирования пола, так и от экологических условий среды [19, 20]. Объяснение генетических механизмов этого процесса противоречиво [21]. К экологическим факторам, влияющим на соотношение пола моллюсков, относят расположение в друзе, ограниченный водообмен, накопление органического вещества в водной толще и донных отложениях [13].

В период наших исследований на мидийных фермах отмечен сдвиг половой структуры моллюсков в сторону увеличения количества самцов (рис. 3). Максимальный сдвиг половой структуры отмечен у мидий, отобранных в б. Мартыновой. В этой бухте преобладание самцов над самками составило 1 : 4 (♀ : ♂). На внешнем рейде соотношение полов составило 1 : 1,8 (♀ : ♂). Такая маскулинизация популяции моллюсков, происходящая под воздействием загрязняющих веществ, может быть причиной репрессии части половых генов [7, 10].

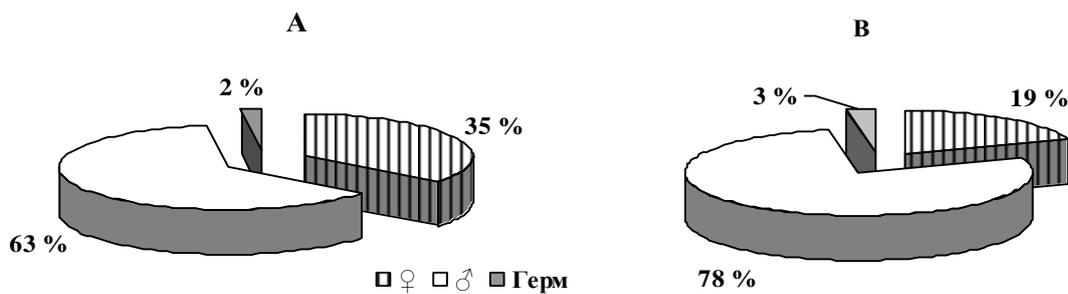


Рис. 3. Соотношение полов у мидии *M. galloprovincialis* (А – внешний рейд; В – б. Мартынова)

Морфометрические параметры мидий имеют адаптивное значение, поэтому являются удобными маркерными признаками при оценке состояния окружающей водной среды. Механизмами адаптации к техногенному прессингу являются увеличение выпуклости (D/L), изменение относительной высоты (H/L) и толщины раковины [8].

При изучении соотношений морфометрических параметров у мидий отмечено, что достоверных отличий в индексе D/L и толщины раковины не наблюдалось ($p \leq 0,05$). При сравнительном анализе индекса H/L у мидий из исследуемых мест обитания выявлено, что в б. Мартыновой соотношение H/L было более высоким ($0,65 \pm 0,01$), чем на внешнем рейде ($0,5 \pm 0,01$) (рис. 4).

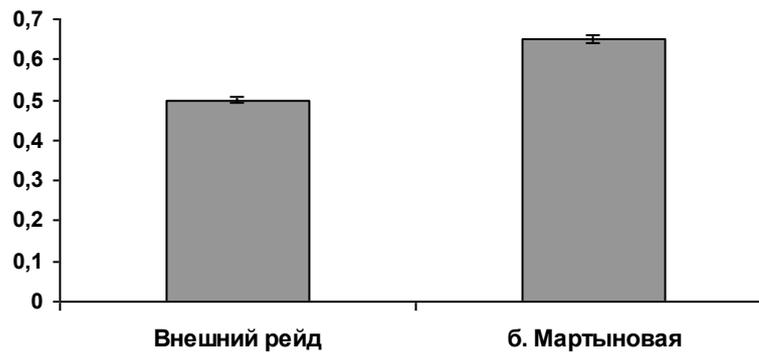


Рис. 4. Соотношение индекса Н/Л у мидии *M. galloprovincialis*

Это, по-видимому, связано с повышенной техногенной нагрузкой (загрязнение нефтепродуктами) в Мартыновья бухте. Концентрации нефтяных углеводородов, даже не достигающие поражающего уровня для морской биоты, вступают в сложные взаимодействия с гидробионтами. Первым этапом этого процесса является накопление или поверхностное загрязнение морских организмов-обитателей [12].

Ранее отмечалось, что изменчивость раковин мидии в прибрежной зоне Черного моря имела четкую связь между их формой и уровнем развитости техногенной инфраструктуры побережья. В частности, индексы выпуклости и вытянутости створок увеличивались в акваториях причалов и портов [8, 23, 24]. Изменение исследуемых индексов также может происходить под влиянием воздействия прибоев, физического давления соседних особей в поселениях моллюсков [24]. Известно [22], что уменьшение вытянутости раковин (увеличение Н/Л) связано с приспособлением мидий к снижению энергетических затрат при длительном смыкании створок, изолирующем моллюска от неблагоприятных условий внешней среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У культивируемой мидии *M. galloprovincialis* отмечен сдвиг половой структуры в сторону увеличения количества самцов в наиболее загрязненной Мартыновья бухте, где соотношение полов составило 1 : 4 (♀ : ♂) по сравнению с внешним рейдом – 1 : 1,8 (♀ : ♂).
2. В акватории, подверженной загрязнению (б. Мартыновья), отмечен больший процент мидий с черной окраской раковины (77 %), чем на внешнем рейде (23 %).
3. Индекс Н/Л раковин мидий был выше у моллюсков из б. Мартыновья (0,65±0,01) по сравнению с внешним рейдом (0,5± 0,01), что свидетельствует о повышенной техногенной нагрузке в акватории Мартыновья бухты.
4. Увеличение количества мидий с черной окраской раковины, количества самцов, индекса вытянутости (Н/Л) раковины *M. galloprovincialis* является

косвенным показателем, отражающим уровень экологической комфортности мидий в районах размещения марихозяйств.

- Из исследуемых акваторий наиболее перспективным районом для культивирования мидий является внешний рейд г. Севастополя.

Список литературы

- Биология культивируемых мидий / под ред. В. Н. Иванова. – Киев: Наукова думка, 1989. – 100 с.
- Холодов В. И. Выращивание мидий и устриц в Черном море / В. И. Холодов, Л. В. Пиркова, Л. В. Ладыгина – Воронеж: ООО ИЗДАТ-ПРИНТ, 2017. – 508 с.
- Davies I. M. Integrated marine environmental monitoring of chemicals and their effects / I. M. Davies and A. D. Vethaak // ICES Cooperative Research Report – 2012. – No. 315. – 277 p.
- Kuznetsova T. V. Comparative assessment of water quality through the evaluation of cardiac responses of native mussels / T. V. Kuznetsova, S. V. Kholodkevich // 4rd Mediterranean Conference on Embedded Computing, MECO. IEEE conference publications. – 2015. Budva, Montenegro. – P. 339–344.
- Челядина Н. С. Анализ фенотипической, половой структуры и стадий зрелости гонад коллекторной мидии *Mytilus galloprovincialis* (г. Севастополь, Черное море) / Н. С. Челядина // Актуальные проблемы аквакультуры в современный период. Материалы докладов. – Ростов-на-Дону, 28.09.–02.10.2015. – Ростов н/Д: ФГБНУ «АзНИРХ», 2015. – С. 190–193.
- Chelyadina N. S. The ecological condition of coastal waters off the Heracles Peninsula (Crimea, the Black Sea) / N. S. Chelyadina, M. A. Popov, E. V. Lisitskaya, N. V. Pospelova, V. N. Popovichev // Ecologica Montenegrina. – 2017. – 14. – P. 39–47.
- Lehtonen K. K. Development of tools for integrated monitoring and assessment of hazardous substances and their biological effects in the Baltic Sea / K. K. Lehtonen, B. Sundelin, T. Lang, J. Strand // AMBIO. – 2014. – V. 43, No 1. – P. 69–81.
- Дехта В. А. Содержание химических элементов в раковинах и изменчивость их формы у мидий *Mytilus galloprovincialis* прибрежной зоны Черного моря / В. А. Дехта, Н. Н. Каталевский. // Геозкол. исслед. и охрана недр. – 2000. – № 3. – С. 26–33.
- Драголи Л. В. К вопросу о взаимосвязи между вариациями черноморской мидии (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) / Л. В. Драголи // Распределение бентоса и биология донных животных в южных морях. – К.: Наук. думка, 1966. – С. 3–15.
- Пиркова А. В. Размножение мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. и элементы биотехнологии ее культивирования: Дисс. на соиск. ученой степени канд. биол. наук / А. В. Пиркова. – Севастополь, 1994. – 198 с.
- Игнатъева О. Г. Оценка уровня загрязнения Севастопольской бухты / О. Г. Игнатъева // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. науч. тр. Вып. 26, том 2 / НАН Украины, МГИ, ИГН, ОФ ИнБЮМ. Редкол.: Иванов В. А. – Севастополь, 2007. – С. 50–56.
- Миронов О. Г. Нефтяное загрязнение у берегов Севастополя / О. Г. Миронов, И. П. Муравьева, Т. О. Миронова // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. науч. тр. Вып. 26, том 1 / НАН Украины, МГИ, ИГН, ОФ ИнБЮМ. Редкол.: Иванов В. А. – Севастополь, 2012. – С. 212–2016.
- Шурова Н. М. Структурно-функциональная организация популяции мидий *Mytilus galloprovincialis* Черного моря: Дисс. на соиск. ученой степени канд. биол. наук / Н. М. Шурова. – Севастополь, 2009. – 398 с.
- Казанкова И. И. Формирование поселений *Mytilus galloprovincialis* Lam. на искусственных субстратах у южных и юго-западных берегов Крыма: Автореф. дисс. на соиск. ученой степени канд. биол. наук / И. И. Казанкова. – Севастополь, 2006. – 24 с.
- Челядина Н. С. Морфологические, биохимические и химические характеристики мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., культивируемой в Черном море: Дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук / Н. С. Челядина. – Севастополь, 2014. – 144 с.
- Булатов К. В. Различия в прикреплении к субстрату мидий разных генотипов / К. В. Булатов, Т. В. Звезда // Цитология и генетика. – 1987. – Т. 21, № 1. – С. 71–74.

17. Кудинский О. Ю. Половое созревание мидий в современных условиях северо-западной части Черного моря / О. Ю. Кудинский, Н. В. Мартынова, Т. В. Столетова // Биологические основы аквакультуры в морях европейской части СССР. – М.: Наука, 1985. – С. 169–180.
18. Караванцева Н. В. Половая структура мидий *Mytilus galloprovincialis* (Lam.), обитающих у берегов Крыма / Н. В. Караванцева // Экология моря. – 2009. – № 77. – С. 57–61.
19. Yoichi Yusa. Population Genetics of Sex Determination in *Mytilus* Mussels: Reanalyses and a Model / Yusa Yoichi, Sophie Breton, Walter R. Hoeh. // Journal of Heredity. – 2013. – V. 104, Is. 3. – P. 380–385.
20. Le J. S. Sex and Sex Reversal of Bivalves / J. S. Le // The Korean Journal of Malacology. – 2015. – V. 31, Is. 4. – P. 315–322.
21. Saavedra C. Male-dependent doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA and female-dependent sex-ratio in the mussel *Mytilus galloprovincialis* / C. Saavedra, M. I. Reyero, E. Zouros // Genetics. – 1997. – V. 145. – P. 1073–1082.
22. Дехта В. А. Консервативная изменчивость в мониторинге и оценке состояния морских экосистем на примере мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. / В. А. Дехта // Проблемы устойчивого функционирования водных и наземных экосистем: Сб. научн. тр., Ростов н/Д: АзНИИРХ, 2006. – С. 102–104.
23. Ломакин П. Д. Океанологическая характеристика и оценка загрязнения вод Балаклавской бухты / П. Д. Ломакин, М. А. Попов // Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2013. – 218 с.
24. Варигин А. Ю. Рост мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam в донных поселениях северо-западной части Черного моря: Дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук / А. Ю. Варигин – Севастополь, 2006. – 22 с.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE ECOLOGICAL STATE OF THE WATER AREAS IN THE AREAS OF MARINE FARMS (SEVASTOPOL, THE BLACK SEA)

Chelyadina N. S., Popov M. A.

*Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: chelyadina2007@mail.ru*

At functioning marine farms it is necessary to take into account the mutual influence of cultivated hydrobionts and the environment. Monitoring researches of mussels biology indirectly reflect the ecological state of the water area. Mussel *Mytilus galloprovincialis* was used as a bio-indicator of the condition of the aquatic environment. The change in the ratio of phenotypes, sexual structure and morphometric characteristics were used as indirect indicators reflecting the level of ecological comfort of mussels. In this paper the description of the areas where marine farms are located in the city of Sevastopol (the Black Sea) are given. The experimental part of the work was carried out during 2004–2007 on the mussel-oyster farm located on the external raid of the Sevastopol city and the mussel farm in Martynova Bay. The water area of the external raid is characterized as a relatively quality environment, the Martynova Bay is occasionally polluted with oil-products. The phene and morphometric parameters of the shell, the sexual structure of the mussel population were determined in *M. galloprovincialis*. To determine the shape of the shell used indexes of relationships: the height of the shuck its length H/L (elongation), width to length D/L (convexity). In determining the frequency of occurrence of phene, a greater percentage of mollusks with a black color of the shell in the

investigated areas, independent of season and year, were noted. The ratio of the brown color (Br) of the shell to the black (B) in the external raid was 1: 1,9 (Br : B), in b. Martynova 1 : 3,3 (Br : B). The number of mussels with black shell color is increased under unfavorable factors of medium. The shift in the sexual structure of mollusks towards the increase in the number of males is noted. The maximum shift of the sexual structure was noted in mussels, selected in b. Martynovoy. The predominance of males over females was 1 : 4 (♀ : ♂) in this bay. The ratio of the sexes was 1 : 1,8 (♀ : ♂) in the external raid. Such masculinization of the mollusk population, which occurs under the influence of pollutants, can cause repression of some of the genes. Morphometric parameters of mussels have an adaptive value, therefore they are convenient marker signs in assessing the state of the aquatic environment. Mechanisms of adaptation to technogenic pressing are increasing the convexity (D/L), changing the relative height (H/L) and the thickness of the shell. There were no significant differences in the D/L index and shell thickness were noted. In a comparative analysis of the H/L index in mussels from the investigated water areas, were shown the mussel from b. Martynova have H/L higher ($0,65 \pm 0,01$) then to the external raid ($0,5 \pm 0,01$). This is due to increased man-made burden (pollution by oil products) in Martynov Bay. The increase in the number of mussels with black color of the shell, the number of males, the elongation index (H/L) of the *M. galloprovincialis* shell are indirect indicators reflecting the level of ecological comfort of the mussels in the areas where the marine farms are located. The most promising area for cultivation of mussels is the external raid of the city of Sevastopol from the investigated water areas.

Keywords: Black Sea, mussel *Mytilus galloprovincialis*, phene, sex, morphometric parameters, mussel-oyster farm.

References

1. Ivanov V. N., Holodov V. I., Senicheva M. I., Pirkova A. V., Bulatov K. V. *Biologiya kultiviruemykh midii*, 100 (K.: Nauk. dumka, 1989).
2. Xolodov V. I., Pirkova A. V., Ladygina L. V. *Vyrashhivanie midij i ustric v Chyornom more*, 508 (Voronezh: OOO Izdat-print, 2017).
3. Davies I. M. and Vethaak A. D. Integrated marine environmental monitoring of chemicals and their effects, *ICES Cooperative Research Report*, **315**, 277 (2012).
4. Kuznetsova T. V., Kholodkevich S. V. Comparative assessment of water quality through the evaluation of cardiac responses of native mussels, 4rd Mediterranean Conference on Embedded Computing, MECO. IEEE conference publications. Budva, Montenegro, 339 (2015).
5. Cheljadina N. S. Analiz fenotipicheskoy, polovoj struktury i stadij zrelosti gonad kollektornoj midii *Mytilus galloprovincialis* (g. Sevastopol', Chjornoe more), Aktual'nye problemy akvakul'tury v sovremennyj period. Mat. dokladov. – Rostov-na-Donu, 28. 09–2. 10. 2015, 190 (Rostov-na-Donu: FGBNU «AzNIRH», 2015).
6. Chelyadina N. S., Popov M. A., Lisitskaya E. V., Pospelova N. V., Popovichev V. N. The ecological condition of coastal waters off the Heracles Peninsula (Crimea, the Black Sea), *Ecologica Montenegrina*, **14**, 39 (2017).
7. Lehtonen K. K., Sundelin B., Lang T., Strand J. Development of tools for integrated monitoring and assessment of hazardous substances and their biological effects in the Baltic Sea, *AMBIO*, **43**, **1**, 69 (2014).
8. Dehta V. A., Katalevskij N. N. Soderzhanie himicheskikh jelementov v rakovinah i izmenchivost' ih formy u midij *Mytilus galloprovincialis* pribrezhnoj zony Chjornogo morja, *Geojekologicheskie issledovaniya i ohrana ndr*, **3**, 26 (2000).

9. Dragoli L. V. *K voprosu o vzaimosvjazi mezhdju variacijami chernomorskoj midii (Mytilus galloprovincialis Lam.), Raspredelenie bentosa i biologija donnyh zhivotnyh v juzhnyh morjah*, 15 (K.: Nauk. dumka, 1989).
10. Pirkova A. V. *Razmnozhenie midii Mytilus galloprovincialis Lam. i jelementy biotehnologii ejo kul'tivirovanija* : Dis. kand. biol. nauk, Sevastopol', 198, (1994).
11. Ignat'eva O. G. *Ocenka urovnja zagrzaznenija Sevastopol'skoj buhty, Jekologicheskaja bezopasnost' pribrezhnoj i shel'fovoj zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*: Sb. nauch. tr., **26**, 2, 50 (2007).
12. Mironov O. G., Murav'jova I. P., Mironova T. O. *Neftjanoe zagrzaznenie u beregov Sevastopolja, Jekologicheskaja bezopasnost' pribrezhnoj i shel'fovoj zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa*: Sb. nauch. tr., **26**, 1, 212 (2012).
13. Shurova N. M. *Strukturno-funktsional'naya organizatsiya populyatsii midii Mytilus galloprovincialis Chernogo morya*. Diss. kand. biol. nauk, Sevastopol, 398 (2009).
14. Kazankova I. I. *Formirovanie poselenij Mytilus galloprovincialis Lam. na iskusstvennyh substratah u juzhnyh i jugo-zapadnyh beregov Kryma* : Avtoref. diss.. na soiskanie uchjonoj stepeni kand. biol. nauk., Sevastopol', 24 (2006).
15. Cheljadina N. S. *Morfologicheskie, biohimicheskie i himicheskie karakteristiki midii Mytilus galloprovincialis Lam., kul'tiviruemoj v Chjornom more* : Diss. kand. biol. nauk, Sevastopol', 144 (2014).
16. Bulatov K. V., Zvezdina T. V. *Razlichija v prikrepleni k substratu midij raznyh genotipov, Citologija i genetika*, **21**, 1, 71 (1987).
17. Kudinskij O. Ju., Martynova N. V., Stoletova T. V. *Polovoe sozrevanie midij v sovremennyh uslovijah severo-zapadnoj chasti Chjornogo morja*, *Biologicheskie osnovy akvakul'tury v morjah evropejskoj chasti SSSR*, 180 (M.: Nauka, 1985).
18. Karavanceva N. V. *Polovaja struktura midij Mytilus galloprovincialis (Lam.), obitajushhih u beregov Kryma, Jekologija morja*, **77**, 57 (2009).
19. Yoichi Yusa, Sophie Breton, Walter R. Hoeh. *Population Genetics of Sex Determination in Mytilus Mussels: Reanalyses and a Model*, *Journal of Heredity*, **104**, 3, 380 (2013).
20. Le J. S. *Sex and Sex Reversal of Bivalves*, *The Korean Journal of Malacology*, **31**, 4, 315 (2015).
21. Saavedra C., Reyero M. I., Zouros E. *Male-dependent doubly uniparental inheritance of mitochondrial DNA and female-dependent sex-ratio in the mussel Mytilus galloprovincialis*, *Genetics*, **145**, 1073 (1997).
22. Dehta V. A. *Konservativnaja izmenchivost' v monitoringe i ocnke sostojanija morskikh jekosistem na primere midii Mytilus galloprovincialis Lam. «Problemy ustojchivogo funkcionirovanija vodnyh i nazemnyh jekosistem»*, sbornik nauchnyh trudov, 9-12.10, 2006, 102 (Rostov-na-Donu, 2006).
23. Lomakin P. D., Popov M. A. *Okeanologicheskaja karakteristika i ocenka zagrzaznenija vod Balaklavskoj buhty*, 2018 (Sevastopol': JeKOSI-Gidrofizika, 2013).
24. Varigin A. Ju. *Rost midii Mytilus galloprovincialis Lam. v donnyh poselenijah severo-zapadnoj chasti Chjornogo morja* : Avtoref. diss. kand. biol. nauk, Sevastopol, 22 (2006).

УДК 612.1/8:796.056

ПЕРЕХОД НА ЗИМНЕЕ ВРЕМЯ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА СПОРТСМЕНОВ

Ярмолюк Н. С., Колотилова О. И.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: nat_yarm@mail.ru*

Показано, что переход на зимнее время приводит к изменению инфрадианной ритмики температуры тела спортсменов, что выражается в перестройке структуры спектров и амплитудно-фазовых взаимоотношений, то есть в развитии десинхроноза. Десинхроноз у спортсменов более выражен у юношей, чем у девушек. Наше исследование в очередной раз подтверждает правильность решения об отмене сезонного перевода времени.

Ключевые слова: инфрадианная ритмика, температура тела, переход на зимнее время, спортсмены.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой спортивной физиологии является повышение работоспособности, устойчивости спортсменов к действию факторов среды, и, следовательно, повышение эффективности спортивной деятельности. Возникает множество ситуаций, которые могут влиять на изменение ритмики физиологических систем: при различных расписаниях сменной работы, при пребывании в полярных районах, при перелетах и переездах в широтном направлении со сменой часового пояса или смещенного режима внешних датчиков (перевод стрелок) [1]. Все эти факторы могут быть причинами развития десинхроноза, который, в свою очередь, снижает эффективность и результативность тренировочного процесса.

Важное место в системе подготовки спортсменов занимает оценка эффективности тренировочного процесса, которая невозможна без анализа информации о функциональном состоянии систем организма. Согласно современным представлениям, функциональное состояние в значительной степени определяется временной организацией физиологических систем. В связи с этим решению такой проблемы, как перевод часов, должны способствовать исследования последствий изменения функционального состояния человека.

Поэтому представляет интерес исследование функционального состояния спортсменов при переводе часов на зимнее и летнее время. В связи с этим целью данного эксперимента явился анализ инфрадианных ритмов (ИР) температуры тела у юношей и девушек, занимающихся спортом, в период перехода на зимнее время.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовало 40 спортсменов-игровиков, из них 20 юношей и 20 девушек. Все обследованные лица являлись студентами 1–4 курсов факультета физической культуры и спорта Таврической академии (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского». Возраст испытуемых составил 18–21 год, стаж занятий спортом – не менее 3–5 лет. Исследования проводились ежедневно с 8 до 10 утра до тренировки спортсменов. У всех волонтеров определялся биологический профиль [2], все испытуемые относились к аритмичному типу. Эксперимент проводился в период перехода на зимнее время, который осуществлялся в ночь с 26 на 27 октября 2013 года (в это время Крым еще находился в составе Украины, в этой стране до сих пор осуществляется сезонный перевод времени). ИР температуры тела спортсменов исследовалась в течение 14 суток до перевода времени в период с 13 по 26 октября 2013 года, и в течение 14 суток после перевода времени в период с 27 октября по 9 ноября 2013 года.

Для определения температуры тела был использован ртутный термометр. Температура измерялась в подмышечной впадине.

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 [3, 4].

В качестве основного метода анализа продолжительности периодов и амплитудно-фазных характеристик температуры тела использовали быстрое преобразование Фурье, обеспечивающее разложение временного ряда на конечное число элементарных периодических компонент, и программу косинор-анализа (решение систем линейных уравнений методом Крамера), дающие полное представление о структуре физиологических ритмов [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя результаты проведенных исследований, отметили некоторые различия в ИР температуры тела девушек и юношей, занимающихся спортом, в условиях перехода на зимнее время.

До перевода времени спектр периодов девушек-спортсменок состоял из трех ритмов: $\approx 2^d,13$, $\approx 2^d,98$ и $\approx 4^d,41$. Амплитуды выделенных ритмов колебались от $0,0087 \pm 0,0011$ усл. ед. до $0,0098 \pm 0,0014$ усл. ед. Доминирующим являлся период $\approx 2^d,13$. С увеличением длины периода отмечается тенденция к снижению амплитуды ритмов. После перевода времени в спектре девушек-спортсменок количество выявленных периодов уменьшилось, и отмечается два ритма: $\approx 2^d,13$ и $\approx 4^d,00$. С увеличением длины периода амплитуды ритмов возрастали, достигая максимального значения в доминирующем ритме – $\approx 4^d,00$ ($0,1240 \pm 0,0024$ усл. ед.) (рис. 1).

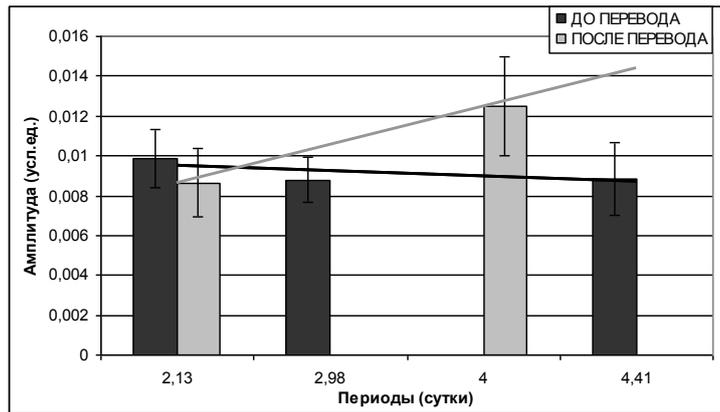


Рис. 1. Спектры периодов инфрадианных ритмов температуры тела девушек-спортсменок до и после перехода на зимнее время

Таким образом, исследуемый спектр ИР температуры тела девушек-спортсменок после перехода на зимнее время становится менее насыщенным, так как выявляется два периода, что на один период меньше, чем до перехода на зимнее время. При этом после перехода на зимнее время доминирующий ритм в спектре девушек-спортсменок смещается в сторону высокочастотных ритмов относительно доминирующего ритма, выявленного до перевода времени. Следует отметить, что до перевода времени отмечаются периоды $\approx 2^d,98$ и $\approx 4^d,41$, не выявленные после перевода времени. Тогда как после перевода времени отмечен ритм $\approx 4^d,00$, не характерный до перехода на зимнее время (рис. 1).

Косинор-анализ позволил выявить определенные межфазные соотношения у девушек-спортсменок до и после перехода на зимнее время. В совпадающем периоде $\approx 2^d,13$ был отмечен достоверный сдвиг фаз на 311° ($p < 0,05$) (рис. 2).

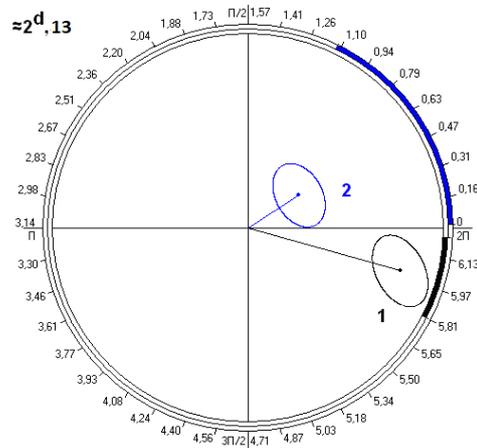


Рис. 2. Косинорограмма периода $\approx 2^d,13$ (радианы) температуры тела девушек-спортсменок: до (1) и после (2) перехода на зимнее время

В ИР температуры тела юношей-спортсменов до перевода времени были выявлены следующие периоды: $\approx 2^d,21$, $\approx 2^d,72$ и $\approx 5^d,57$, при этом доминирующим ритмом был – $\approx 2^d,21$ с амплитудой $0,0065 \pm 0,0020$ усл. ед. После перехода на зимнее время в спектре у юношей-спортсменов отмечены такие ритмы: $\approx 2^d,21$, $\approx 3^d,12$ и $\approx 4^d,13$, при этом доминирующим был высокочастотный период $\approx 3^d,12$ с амплитудой $0,0074 \pm 0,0016$ усл. ед. (рис. 3).

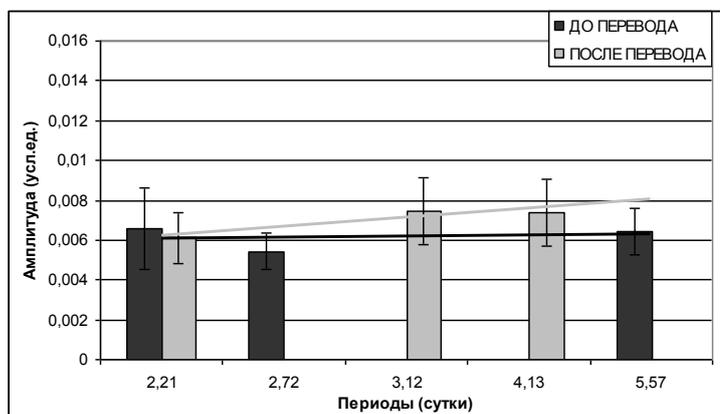


Рис. 3. Спектры периодов инфрадианных ритмов температуры тела юношей-спортсменов до и после перехода на зимнее время

Таким образом, в спектре юношей-спортсменов количество выявленных ритмов до и после перевода времени совпадает и составляет 3 периода. Кроме того, после перевода времени доминирующий ритм ($\approx 3^d,12$) смещается в сторону высокочастотных ритмов относительно такового, выявленного до перевода времени ($\approx 2^d,21$). При этом до перевода времени отмечена тенденция к понижению амплитуд с увеличением длины периода, тогда как после перевода времени амплитуды выделенных ритмов возрастают с увеличением длины периода. В совпадающем периоде ($\approx 2^d,21$) отмечена лишь тенденция к понижению амплитуд после перехода на зимнее время (рис. 3).

Косинор-анализ позволил выявить определенные межфазные соотношения у юношей-спортсменов до и после перевода времени. В высокочастотном периоде $\approx 2^d,13$ отмечена только тенденция к сдвигу фаз на 15° .

Таким образом, полученные нами данные значительно расширяют представления о рассогласовании биологических ритмов при переходе на зимнее время. Ранее нами было показано, что переход на зимнее время вызывает десинхронизацию сердечно-сосудистой системы спортсменов, что выражается в перестройке спектров и амплитудно-фазовых взаимоотношений [6]. Другие авторы обнаружили изменения температуры тела при перелетах и переездах в широтном направлении со сменой часового пояса. Так, Т. Sasaki (1964) выявил, что пересечение всего лишь 0,5-часового пояса за сутки уже приводит к нарушению хроноструктуры циркадианного ритма температуры тела, которая восстанавливается позже других показателей [7]. Кроме того, известно, что после

перелета на запад ритм температуры тела восстанавливается за 3–12 суток, а после перелета на восток – за 3–15 суток [8].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что переход на зимнее время становится причиной десинхроноза у спортсменов. Типичными проявлениями десинхроноза являются снижение работоспособности, вялость, усталость, нарушения сна, деятельности желудочно-кишечного тракта, часто наблюдаются головные боли, шум в ушах и другие явления [9]. Острый десинхроноз проявляется выраженными нарушениями ритма сон – бодрствование, изменениями психического статуса и вегетососудистыми сдвигами. Отмечено, что у спортсменов, не прошедших курс специальной коррекции, наблюдается острый срыв адаптационных возможностей. В конечном итоге это приводит к существенному снижению функциональной готовности спортсменов, невозможности полноценной подготовки к предстоящим стартам и, следовательно, к снижению результативности [10]. Наше исследование в очередной раз подтверждает правильность решения об отмене сезонного перевода времени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Переход на зимнее время сопровождается изменениями инфрадианной ритмики температуры тела у спортсменов, что выражается в сокращении числа выявленных периодов, изменении амплитуд и достоверных сдвигах фаз, то есть в развитии десинхроноза.
2. Десинхроноз, развивающийся при переходе на зимнее время, более выражен у девушек-спортсменов.

Список литературы

1. Матюхин В. А. Экологическая физиология человека и восстановительная медицина: монография / В. А. Матюхин, А. Н. Разумов. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. – 336 с.
2. Доскин В. А. Биологические ритмы растущего организма / В. А. Доскин, Н. Н. Куиджи – М.: Медицина, 1989 – 224 с.
3. 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.
4. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. / Боровиков В. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
5. Емельянов И. П. Формы колебания в биоритмологии / Емельянов И. П. – Новосибирск: Наука, 1976. – 127 с.
6. Ярмолук Н. С. Переход на «зимнее время» вызывает десинхроноз в деятельности сердечно-сосудистой системы у спортсменов / Н. С. Ярмолук., Е. Ю. Грабовская // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 180–185.
7. Sasaki T. Effect of rapid transposition around the earth on diurnal variation in body temperature. / Sasaki T. // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* – 1964. – Vol. 115, No. 4 – P. 1129–1131.
8. Aschoff J. Re-entrainment of circadian rhythms after phase-shifts of the Zeitgeber / Aschoff J., Hoffman K., Pohl H., Wever R. // *Chronobiologia.* – 1975. – Vol. 2, No. 1. – P. 23–78.
9. Lahti T. A. Transitions into and out of daylight saving time compromise sleep and the rest-activity cycles / T. A. Lahti, S. Leppämäki, J. Lönnqvist, T. Partonen // *BMC Physiology* – 2008. – Vol. 8. – P. 3.

10. Губин Д. Г. К вопросу об изменении часовых поясов и о переходе на летнее время в РФ / Д. Г. Губин, С. М. Чибисов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Биологические науки – 2010. – № 2. – С. 64–68.

TRANSITION TO WINTER TIME CALLS INFRARED RHYTHMICS OF BODY TEMPERATURE

Yarmolyuk N. S., Kolotilova O. I.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation
E-mail: e.yatsenko@mail.ru*

The actual problem of sports physiology is to increase the efficiency, the stability of athletes to the action of environmental factors, and, consequently, to improve the effectiveness of sports activities. There are many situations that can affect the rhythm of physiological systems – with different schedules of shift work, while staying in polar regions, during flights and crossings in the latitudinal direction, with a change in the time zone or a shifted regime of external sensors (translation of arrows). All these factors can be the causes of desynchronization, which, in turn, reduces the effectiveness and effectiveness of the training process.

An important place in the training of athletes is the assessment of the effectiveness of the training process, which is impossible without analyzing information about the functional state of the body systems. According to modern concepts, the functional state is largely determined by the temporal organization of physiological systems.

The solution of the problem of transferring the clock to "winter" time should be promoted by studies of the consequences of changes in the functional state of a person.

Therefore, it is of interest to study the transition to "winter" time.

In connection with this, the purpose of this experiment was the analysis of the infrared rhythms of body temperature in young men and women involved in sports, during the transition to "winter" time.

The investigated spectrum of the infra-rhythmic rhythm of the body temperature of female athletes after the transition to "winter" time becomes less saturated, since two periods are revealed, which is one less period than before the transition to "winter" time. In this case, after the transition to "winter" time, the dominant rhythm in the spectrum of female athletes is shifted towards high-frequency rhythms with respect to the dominant rhythm detected before the time transfer. It should be noted that before the transfer of time, periods of $\approx 2^d,98$ and $\approx 4^d,41$ are noted, not detected after the time transfer. Then, after the transfer of time, a rhythm $\approx 4^d,00$, not characteristic before the transition to the "winter" time.

Thus, after the transfer of time, the dominant rhythm in the spectrum of young athletes is shifted towards low-frequency rhythms relative to that found before the time shift. In this case, before the time shift, the tendency to decrease of the amplitudes with an increase in the length of the period is noted, whereas after the time transfer the amplitudes of the isolated rhythms increase with increasing period length.

Keywords: infradian rhythm, body temperature, transition to "winter" time, athletes.

References

1. Matyukhin V. A., Razumov A. N. *Ecological physiology of man and restorative medicine*: monograph, 336 p. (Moscow: GEOTAR MEDICINE, 1999).
2. Doskin V. A., Kuidzhi N. N. *Biological rhythms of the growing organism*, 224 p. (M.: Medicine, 1989).
3. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. *Statistical methods in biomedical research using Excel*, 319 p (K.: Modmon, 2000).
4. Borovikov V. *Statistica. Art computer data analysis: For professionals. 2nd ed.*, 688 p. (St. Petersburg.: Peter, 2003).
5. Emelyanov I. P. *Waveform in biorhythmology*, 127 p. (Novosibirsk: Nauka, 1976)
6. Yarmolyuk N. S., Grabovskaya E. Yu. The transition to "winter time" causes desynchronization in the activity of the cardiovascular system in athletes, *Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. VI Vernadsky Series "Biology, Chemistry"*, **27 (66), 2**, 180 (2014).
7. Sasaki T. Effect of rapid transposition around the earth on diurnal variation in body temperature. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **115, 4**, 1129 (1964).
8. Aschoff J., Hoffman K., Pohl H., Wever R. Re-entrainment of circadian rhythms after phase-shifts of the Zeitgeber, *Chronobiologia*, **2, 1**, 23 (1975).
9. Lahti T. A., Leppämäki S., Lönnqvist J., Partonen T. Transitions into and out of daylight saving time compromise sleep and the rest-activity cycles, *BMC Physiology*, **8, 3**, (2008)
10. Gubin D. G., Chibisov S. M. On the variation of time zones and daylight saving time in Russia, *International Journal of Applied and Basic Research in Biological Sciences*, **2**, 64, (2010).

УДК 612.821

**ПОКАЗАТЕЛИ УМСТВЕННОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ
И ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА В
РАЗНЫЕ ГОДЫ ОБУЧЕНИЯ В ВУЗЕ**

Яценко М. В.

*ФГБОУ ВО Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия
E-mail: e.yatsenko@mail.ru*

Проведена оценка динамики показателей умственной работоспособности и нейрофизиологических механизмов их обеспечения у студентов 1–3 курсов обучения. Анализ результатов, полученных на одних и тех же студентах, позволил сделать заключение о том, что показатели объема и скорости переработки информации увеличивают свои показатели из года в год. Данная тенденция наблюдается на фоне достоверного снижения амплитуды, мощности, индекса дельта-ритма и увеличения его частоты, кроме того, в исследуемый период возрастает значение индекса бета-ритма, а также наблюдается увеличение значения мощности тета-ритма у студентов 1-го и 3-го курсов.

Ключевые слова: умственная работоспособность, ритмы электроэнцефалограммы, студенты.

ВВЕДЕНИЕ

Современные условия образовательного процесса предъявляют учащимся, особенно на первом этапе, высокие требования к реализации качеств, отвечающих за процессы восприятия и переработку, запоминание и воспроизведение новой информации. Эффективность процесса адаптации определяется формирующимися функциональными системами, которые с одной стороны обеспечивают приспособительный результат, а с другой стороны – реализацию деятельности и сохранение постоянства внутренней среды организма [1]. При этом приспособление к новым факторам образовательного процесса в вузе сопровождается комплексом адаптационных реакций, которые вызывают напряжение компенсаторных систем организма [2].

От того, насколько успешно проходит адаптация к новым условиям, будет зависеть не только уровень подготовки специалиста, но и состояние систем организма, задействованных в данном процессе. Это определяет актуальность исследований, направленных на изучение механизмов адаптации к учебной деятельности, результаты которых могут использоваться как для повышения успешности усвоения новой информации, так и для сохранения ресурсов организма, обеспечивающих здоровье студентов.

Результат, формирующихся при адаптации функциональных систем, отражается в функциональном состоянии организма, которое представляет собой характеристики процессов, свойств и качеств, обуславливающих уровень

активности систем и эффективность деятельности [3–6]. Функциональное состояние нервной системы, ее активность соответствует виду выполняемой деятельности, и каждому состоянию соответствует качественная специфичность структуры церебральной нейронной сети [3], что проявляется в характеристиках биоэлектрической активности мозга.

В связи со сказанным, целью настоящей работы явилось изучение умственной работоспособности и биоэлектрической активности мозга в разные годы обучения у одних и тех же студентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе настоящего исследования было проведено сравнение показателей умственной работоспособности и биоэлектрической активности мозга у студентов на 1-м, 2-м и 3-м курсе обучения. Во всех замерах день недели был понедельник. В исследовании приняли участие одни и те же студенты: 16 человек (девушки 17–21 года) на первом курсе, втором курсе и на третьем курсе.

Оценка умственной работоспособности проводилась с помощью буквенных таблиц Бурдона – Анфимова [7]. Рассчитывались следующие показатели:

- объем обработанной информации (V – количество просмотренных букв);
- скорость обработки информации (S – количество просмотренных букв за одну минуту);
- точность ($ПТ = \text{количество зачеркнутых букв} / \text{количество зачеркнутых букв} + \text{количество ошибок}$).

Продолжительность корректурной пробы составляла 2 минуты, при этом показатель объема определялся за все время проведения пробы, а показатель скорости – только за вторую минуту, чтобы исключить влияние на результат эффекта вратывания.

Регистрация ЭЭГ велась с помощью прибора «Энцефалан 131-03», модификация 10 («Медиком», Россия), от 21 отведений, монополярно, по международной системе 10–20, в положении сидя, в состоянии спокойного бодрствования при открытых и закрытых глазах. Референтные электроды крепились к мочкам ушей.

Для дифференциации артефактов ЭЭГ одновременно проводилась регистрация вертикальной и горизонтальной электроокулограмм, электрокардиограммы и электромиограммы. Регистрировали четыре основных диапазона составляющих ЭЭГ: дельта – 0,3–4 Гц, тета – 4–8 Гц, альфа – 8–13 Гц, бета – 13–30 Гц, при этом показатели дельта-, тета- и бета-ритмов определялись в пробе с открытыми глазами, а показатели альфа-ритма – с закрытыми глазами. Длительность анализируемых участков ЭЭГ составляла 15–20 секунд. Используя программное обеспечение прибора по всем каналам в диапазоне от 0,3 Гц до 30 Гц, определяли следующие характеристики ритмов электроэнцефалограммы:

- абсолютные значения амплитуд ($A3A$) по выбранным частотным диапазонам (мкВ);
- абсолютные значения мощностей ($A3M$) – площадь под соответствующим участком спектрограммы по выбранным частотным диапазонам ($\text{мкВ}^2/\text{Гц}$);

- значения доминирующих частот (ЗДЧ) по выбранным частотным диапазонам
- частоты, соответствующие максимуму на участке спектрограммы (Гц);
- индексы альфа-, бета-, дельта- и тета-ритмов отражают выраженность данных частотных компонентов в ЭЭГ.

В качестве интегративного показателя функционального состояния использовались усредненные характеристики ритма ЭЭГ с целью выявления общемозговых характеристик [8].

Математическая обработка материалов проводилась с помощью пакета программ «SPSS v.13».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ полученных результатов выявил наличие сходных особенностей показателей объема и скорости переработки информации в разные годы исследований: как объем, так и скорость увеличивают свои показатели из года в год (рис. 1). Причем имеют место достоверные различия ($p < 0,05$) между первым и последним годами. При сравнении показателя точности в трех замерах достоверных различий между ними обнаружено не было.

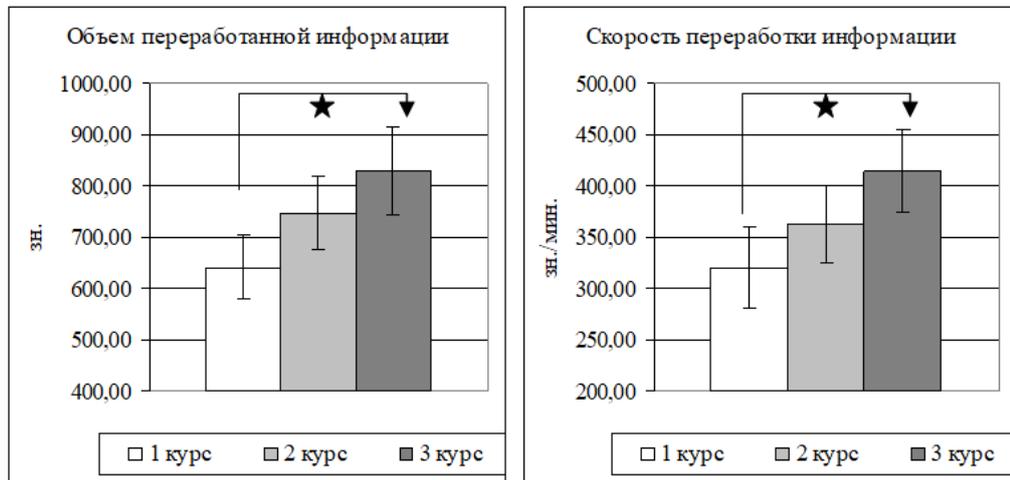


Рис. 1. Показатели умственной работоспособности в разные годы обучения (* – статистически значимые различия при $p < 0,05$)

Поскольку в разные годы в замерах участвовали одни и те же студенты в период их обучения на 1-м, 2-м и 3-м курсе, то обнаруженные особенности динамики умственной работоспособности студентов можно связать с процессами долговременной адаптации к вузу.

Можно предположить, что причиной таких результатов было то функциональное состояние перед выполнением теста на умственную работоспособность, в котором находились испытуемые на момент измерений.

Анализ биоэлектрической активности мозга обнаружил достоверные различия в исходном состоянии (рис. 2). Практически все характеристики ЭЭГ в дельта-диапазоне имели достоверные различия ($p < 0,05$) между первым и последним замером.

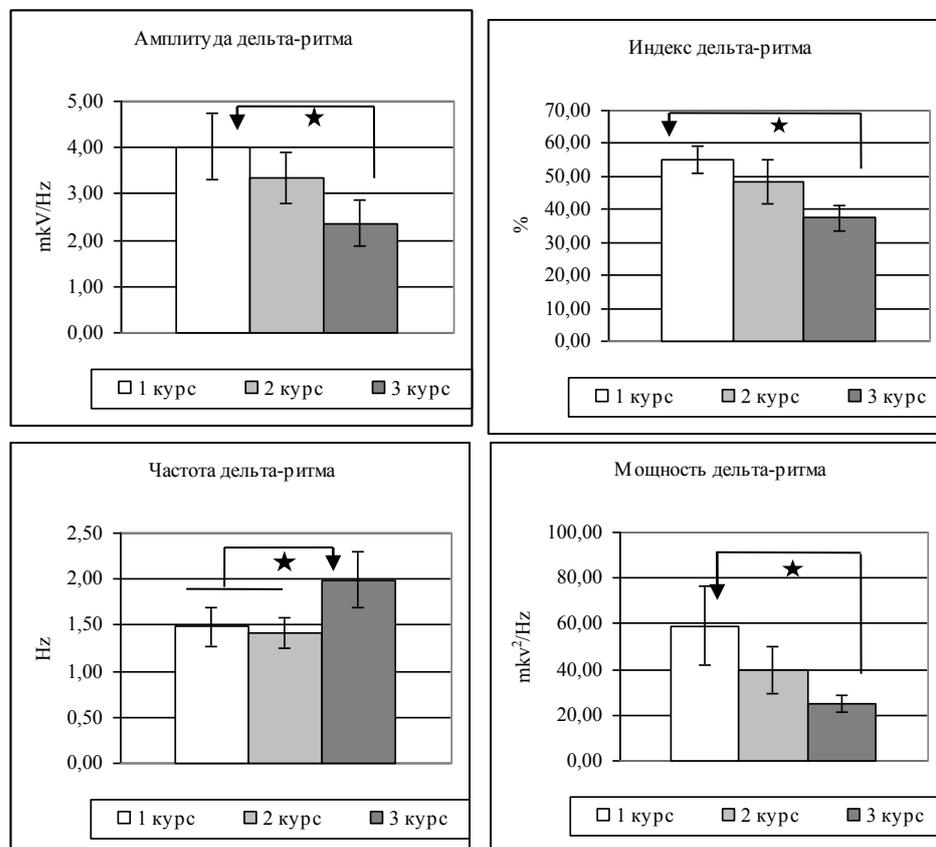


Рис. 2. Показатели дельта-активности в разные годы обучения (* – статистически значимые различия при $p < 0,05$)

Первый замер характеризовался высокими значениями амплитуды, мощности, индекса дельта-ритма и низким значением его частоты в противоположность последнему замеру, т. е. исходное состояние испытуемых в первом замере характеризовалось наличием выраженных тормозных влияний на кору головного мозга со стороны подкорковых структур. В последнем же замере исходное функциональное состояние головного мозга характеризовалось снижением значимости дельта-активности и повышением выраженности бета-ритма, т. е. смещением нервных процессов в сторону возбуждения.

Этот факт подтверждает также наличие более высокого ($p < 0,05$) значения показателя бета-индекса в последнем замере (рис. 3). Кроме этого, достоверные различия ($p < 0,05$) проявились в выраженности тета-ритма, высокие значения,

которого имели место в первом и последнем замере, низкие – во втором (рис. 3). Это может свидетельствовать о преобладании активирующих влияний на кору мозга со стороны не только таламо-кортикальной, но и лимбической систем [9–12].

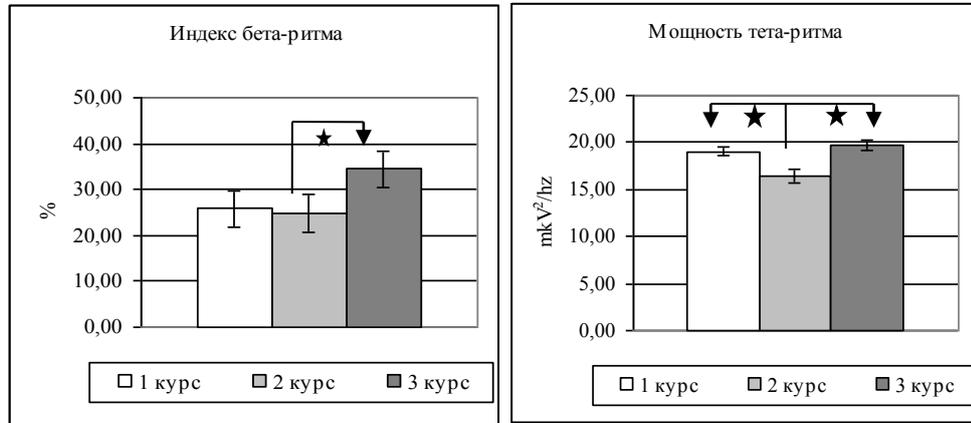


Рис. 3. Показатели бета- и тета-активности в разные годы исследования (* – статистически значимые различия при $p < 0,05$).

Можно предположить, что различия исходного состояния биоэлектрической активности головного мозга в разные годы исследований отразились на особенностях обеспечения умственной деятельности студентов. Лица с наличием выраженных тормозных влияний на кору головного мозга имеют низкие значения показателей объема и скорости переработки информации [13]. Кроме того, в литературе присутствуют данные о низком функциональном уровне состояния нервной системы у студентов 1 курсов [14], которые получены на основании исследований показателей времени простой зрительно-моторной реакции. У студентов старших курсов наблюдаются возрастание показателей силы и подвижности нервных процессов [15], что может свидетельствовать о снижении влияния процессов торможения на нервную систему. Также отмечается повышение адаптационных резервов студентов к третьему году обучения [16], что можно объяснить тем, что стадия формирования адаптации студентов имеет продолжительность с первого по второй курс обучения, а к третьему и четвертому курсу формируется уже устойчивая адаптации [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты позволили проследить динамику показателей умственной работоспособности и нейрофизиологические механизмы их обеспечения у студентов 1–3 курсов обучения. Анализ результатов, полученных на одних и тех же студентах в период их обучения на 1-м, 2-м и 3-м курсе, позволил сделать заключение о том, что показатели объема и скорости переработки информации увеличивают свои показатели из года в год, причем имеют место

достоверные различия ($p < 0,05$) между первым и последним годами. Данная тенденция наблюдается на фоне достоверного снижения амплитуды, мощности, индекса дельта-ритма и увеличения его частоты, что свидетельствует об уменьшении влияния процессов торможения на кору мозга. Кроме того, в исследуемый период возрастает значение индекса бета-ритма, что указывает на смещение нервных процессов в сторону возбуждения. Также на этом фоне отмечаются высокие значения мощности тета-ритма у студентов 1-го и 3-го курсов.

Список литературы

1. Медведев В. И. Адаптация человека / В. И. Медведев. – СПб.: Институт мозга человека РАН, 2003. – 584 с.
2. Спицин А. П. Особенности адаптации студентов младших курсов медицинского вуза к учебной деятельности / А. П. Спицин // Гигиена и санитария. – 2002. – № 1. – С. 47–49.
3. Данилова Н. Н. Психофизиологическая диагностика функциональных состояний / Н. Н. Данилова. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 192 с.
4. Зинченко В. П. Большой психологический словарь / В. П. Зинченко, Б. Г. Мещеряков. – М., СПб.: АСТ-Москва; Прайм-Еврознак, 2008. – 868 с.
5. Леонова А. Б. Психодиагностика функциональных состояний человека / А. Б. Леонова. – М.: Изд-во МГУ, 1984. – 186 с.
6. Медведев В. И. Функциональные состояния работающего человека [Эргономика: принципы и рекомендации. Метод. руководство] / В. И. Медведев. – М.: ВНИИТЭ, 1981. – С. 43–60.
7. Столяренко Л. Д. Основы психологии / Л. Д. Столяренко. – Ростов-на-Дону: Феникс, 1996. – 736 с.
8. Бердников Д. В. Психофизиологические особенности регуляции целенаправленной деятельности по восприятию и воспроизведению информации: Дисс... докт. мед. наук: спец. 19.00.02. «Психофизиология» / Бердников Д. В. – Курск, 2016. – 378 с.
9. Князев Г. Г. Осцилляции мозга и поведение человека: эволюционный подход [Методологические проблемы современной психологии: иллюзии и реальность. Материалы Сибирского психологического форума 16–18 сентября 2004.] / Г. Г. Князев – Томск: Изд-во ТГУ, 2004. – С. 570–576.
10. Klimesch W. Alpha-band oscillations, attention, and controlled access to stored information / W. Klimesch // Trends in cognitive sciences. – 2012. – V. 16. – P. 606–617.
11. Morrison A. B. Does working memory training work? The promise and challenges of enhancing cognition by training working memory / A. B. Morrison, J. M. Chein // Psychon Bull Rev. – 2010. – № 18. – P. 46–60.
12. Sherman S. M. Exploring the thalamus and its role in cortical function / S. M. Sherman, R. W. Guillery. – Cambridge, MA : MIT Press, 2005. – 497 p.
13. Голубева Э. А. Способности и индивидуальность / Э. А. Голубева. – М.: Прометей, 1993. – 305 с.
14. Халидова Л. М. Динамика психофизиологических показателей в период адаптации к вузовской среде / Л. М. Халидова, Л. И. Губарева // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 1. – С. 1–8.
15. Литвинова Н. А. Роль индивидуальных психофизиологических особенностей в адаптации к умственной деятельности / Н. А. Литвинова, Э. М. Казин, С. Б. Лурье, О. В. Булатова // Вестник КемГУ. – 2011. – № 1. – С. 141–147.
16. Захаров Н. Е. Психофизиологические аспекты адаптации организма студентов в процессе вузовского обучения / Н. Е. Захаров, М. В. Захарова, Г. П. Золотникова, Т. А. Скачкова, В. Э. Сизаева // Ученые записки университета им. П. Ф. Лесгафта. – 2017. – № 6 (148). – С. 249–253.
17. Засядько К. И. Динамика показателей психофункционального состояния студентов вуза в ходе их адаптации к процессу обучения [Взаимодействие науки и общества: проблемы и перспективы: сборник статей Международной научно-практической конференции (5 ноября 2016 г. в г. Волгоград)] / К. И. Засядько, Д. Л. Опрощенко, Д. В. Красичков. – Уфа: АЭТЕРНА, 2016. – С. 190–192.

**INDICATORS OF MENTAL HEALTH AND CHARACTERISTICS OF
BIOELECTRICAL BRAIN ACTIVITY IN DIFFERENT YEARS OF STUDY AT
THE UNIVERSITY**

Yatsenko M. V.

*Altay State University, Barnaul, Russia
E-mail: e.yatsenko@mail.ru*

Adaptation to new factors of the educational process in the university is accompanied by a complex of adaptive reactions that cause the tension of the compensatory systems of the body. The result, formed with the adaptation of functional systems, is reflected in the functional state of the organism, which is the characteristics of processes, properties and qualities that determine the level of activity of systems and efficiency of activity. The functional state of the nervous system corresponds to the type of activity, each state corresponds to the specificity of the structure of the cerebral neural network, which manifests itself in the characteristics of the bioelectric activity of the brain.

The aim of this work was to study the mental capacity and bioelectrical activity of the brain in different years of study in the same students.

In the course of this study, a comparison was made between the indices of mental capacity and brain bioelectric activity in students at the 1st, 2nd and 3rd years of study. In all experiments, the day of the week was Monday. The study involved the same students: 16 people (girls 17–21). Evaluation of mental performance with the help of Bourdon-Anfimov's letter tables. The indicators were calculated: the volume of processed information, the speed of processing information and accuracy. EEG registration using "Encephalan 131-03" device modification 10 (Medikom, Russia) from 21 channels. The equations of regression were calculated.

The results obtained allowed us to trace the dynamics of mental performance indicators and the neurophysiological mechanisms for their provision in students of 1–3 years of study. Analysis of the results obtained on the same students, during their studies at the 1st, 2nd and 3rd years, made it possible to conclude that the indicators of the volume and speed of processing information increase their performance from year to year, and, there are significant differences between the first and last years. This trend is observed against a background of a significant decrease in the amplitude, power, delta rhythm index and increase in its frequency, which indicates a decrease in the effect of inhibition on the cerebral cortex. In addition, the period under investigation increases the value of the beta rhythm index, which indicates a shift in the nervous processes toward excitation. Also, against this background, high values of the power of the theta rhythm for students of the 1st and 3rd courses are noted.

Keywords: mental capacity, the rhythms of the electroencephalogram, students.

References

1. Medvedev V. I. *Adaptation of the person*, 584 p. (SPb.: Institute of human brain RAS, 2003).
2. Spitsin A. P. Peculiarities of adaptation of students of younger courses of medical college to educational activity, *Hygiene and sanitation*, **1**, 47 (2002).
3. Danilova N. N. *Psychophysiological diagnostics of functional states*, 192 p. (Moscow: Moscow state University Publishing house, 1992).
4. Zinchenko V. P., Meshcheryakov B. G. *Great psychological dictionary*, 868 p. (M., St. Petersburg: AST-Moscow; Prime-evroznak, 2008).
5. Leonova A. B. *Psychodiagnostics of human functional states*, 186 p. (M.: Moscow state University publishing House, 1984).
6. Medvedev V. I. Functional states of the working person, *Ergonomics: principles and recommendations. Method. Guide*, 43 (Moscow: VNIITE, 1981).
7. Stolyarenko L. D. *Basic of psychology*. — 736 p. (Rostov-on-don: Phoenix, 1996).
8. Berdnikov D. V. *Psychophysiological peculiarities of regulation of activities focused on perception and reproduction of information*: Diss. ... doctor. med. sciences, 378 p. (Kursk, 2016).
9. Knyazev G. G. brain Oscillations and human behavior: an evolutionary approach // Methodological problems of modern psychology: illusions and reality. The materials of the Siberian psychological forum September 16-18, 2004, 570 (Tomsk: Publishing house of TSU, 2004).
10. Klimesch W. Alpha-band oscillations, attention, and controlled access to stored information, *Trends in cognitive sciences*, **16**, 606 (2012).
11. Morrison A. B., Chein J. M. Does working memory training work? The promise and challenges of enhancing cognition by training working memory, *Psychon Bull Rev.*, **18**, 46 (2010).
12. Sherman S. M., Guillery R. W. *Exploring the thalamus and its role in cortical function*, 497 p. (Cambridge, MA: MIT Press, 2005).
13. Golubeva E. A. *Abilities and individuality*, 305 p. (M.: Prometheus, 1993).
14. Khalidova L. M., Gubareva L. I. Dynamics of psychophysiological indicators in the period of adaptation to the university environment, *Modern problems of science and education*, **1**, 1 (2014).
15. Litvinova N. A., Kazin E. M., Lurie B., Bulatov O. V. The role of individual psychophysiological characteristics in adaptation to mental activity, *Bulletin Of The KemSU.*, **1**, 141 (2011).
16. Zakharov N. E., Zakharova M. V., Zolotnikova G. P., Skachkova T. A., Isaeva V. E. Psychophysiological aspects of adaptation of students in the process of university education, *Scientific notes University P. F. Lesgafta*, **6 (148)**, 249 (2017).
17. Zasyadko K. I., Poloshchenko D. L., Krasichkov D. V. *Dynamics of indicators of psycho-functional status students of university in the course of their adaptation to the learning process*, Interaction of science and society: problems and prospects: collection of articles of the International scientific-practical conference (November 5, 2016 in Volgograd), 190 (Ufa: AETERNA, 2016).

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского
Биология. Химия. Том 4 (70). 2018. № 2. С. 172–182.

УДК 664.143:149.075.8

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХАЛВЫ КОМБИНИРОВАННОГО СОСТАВА

Брановицкая Т. Ю.¹, Кайбулаева Р. С.²

¹Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия

*²ГБОУ РК «Крымская гимназия-интернат для одаренных детей», Бахчисарайский район, с. Танковое, Республика Крым, Россия
E-mail: rusana_kaybulaeva@mail.ru*

Халва обладает уникальной пищевой ценностью. Для расширения ассортимента халвы и получения продуктов различного функционального назначения в подсолнечную халву вводились добавки – тыква и лен – в различных процентных соотношениях. Изучено влияние различных масличных источников сырья и пенообразователей на безопасность и качество халвы. Определены параметры качества халвы, которыми являются показатели перекисного и кислотного, иодного чисел, отражающие биохимические процессы, протекающие в период приготовления и хранения халвы.

Ключевые слова: халва, жирные кислоты, масличные культуры, кислотное число, перекисное число, иодное число, жирно-кислотный состав.

ВВЕДЕНИЕ

Кондитерские изделия относятся к числу любимых изделий пищевого рациона детей и взрослых, пользуются большим спросом у потребителей [1]. Анализ химического состава кондитерских изделий показывает их низкую биологическую ценность, в связи с чем они нуждаются в существенной коррекции химического состава в направлении повышения количества питательных веществ при одновременном снижении энергетической ценности [2].

Согласно ГОСТ Р 53041-2008, халва – сахаристое кондитерское изделие волокнисто-слоистой структуры на основе сбитой с пенообразователем карамельной массы и растертых обжаренных ядер орехов, арахиса и (или) жиросодержащих семян, с добавлением или без добавления пищевых добавок, ароматизаторов, с массовой долей жира не менее 25 % [3]. Пищевые жиры играют важную роль в технологиях кондитерских изделий, оказывая влияние на текстуру, вкус и аромат, питательные свойства и энергетическую ценность [4].

В соответствии с рекомендациями Института питания РАМН, соотношение полиненасыщенных жирных кислот (далее – ПНЖК) ω -6: ω -3 в питании здорового

человека должно составлять около (9–10):1, для лечебного питания – 3:1, 5:1; при этом соотношение ПНЖК к насыщенным жирным кислотам (НЖК) должно быть 2:1. В природе не существует жира, который бы соответствовал формуле сбалансированного жира. В качестве сырья для создания халвы со сбалансированным жирно-кислотным составом нами выбраны масличные культуры с наибольшей массовой долей олеиновой кислоты – подсолнечник масличный (*Helianthus annuus*), линолевой кислоты – тыква обыкновенная (*Cucurbita pepo*), линоленовой кислоты – лен обыкновенный (*Linum usitatissimum*) [5].

Целью данной работы является изучение влияния различных масличных источников сырья и пенообразователей на безопасность и качество халвы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Критериями качества халвы являются показатели окисленности, кислотное, иодное и перекисное числа [6]. Определяли кислотное число титриметрическим методом по ГОСТ Р 50457-92. Кислотностью жира, или кислотным числом, называется число миллиграммов едкого калия, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира [7].

Определение перекисного числа проводили по соответствующей методике из ГОСТ Р 51487-99, который основывается на способности пероксидных группировок жира реагировать с KI в кислой среде [8].

Определение иодного числа определяли с помощью метода Вийса (определение иодного числа раствором иодида калия в ледяной уксусной кислоте) по ГОСТ 5475-69. Метод основан на взаимодействии иода с непредельными жирными кислотами жира [9].

Определение массовой доли жира проводили с помощью рефрактометрического метода по ГОСТ 5899. Методика базируется на извлечении жира из навески и определении показателя преломления растворителя и раствора жира [10].

Также нами был проведен лабораторный анализ такого показателя, как массовая доля влаги. Данный анализ был проведен методом высушивания по ГОСТ 5900-73 [11].

Для расчета сбалансированного рецептурного состава нами использовалась методика, предложенная Матвеевой Т. В. и коллегами [12]. Сбалансированное соотношение жирных кислот ω -6 и ω -3 с учетом требований диетологов и жирно-кислотным составом масличных культур приведено в табл. 1.

С помощью программы MatCad путем решения системы уравнений для получения рецептурного соотношения сырья проведены расчеты.

Таблица 1

Содержание жирных кислот в масличных культурах

Масличные культуры	Содержание основных жирных кислот, %				
	НЖК	МНЖК	ПНЖК всего	из ПНЖК	
				ω -6	ω -3
Подсолнечник	14,0	40,3	45,7	45,6	0,1
Лен	8,3	14,3	77,4	13,4	64,0
Тыквенные семена	10,0	26,0	64,0	55,0	9,0

Для проведения физико-химических исследований и определения окисленности мы выбрали 8 образцов халвы:

1. Алтай 70/19/11 (I)
2. Алтай 60/38/2 (II)
3. Алтай 43/39/18 (III)
4. Алтай цельный лен 43/39/18 (IV)
5. Солодка 70/19/11(V)
6. Солодка 60/38/2(VI)
7. Солодка 43/39/18(VII)
8. Солодка цельный лен 43/39/18(VIII).

Цифры в образцах обозначают процентное содержание подсолнечника, тыквы и льна.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения качества халвы нами был исследован такой физико-химический показатель, как массовая доля жира. По результатам исследований, все образцы соответствуют норме и массовая доля жира в них не превышает 34 %. Но лучшим соотношением подсолнечника, тыквы и льна является образец 70/19/11. Это объясняется тем, что к маслам, богатым линолевой кислотой, относится масло подсолнечника, а масло с высоким содержанием линоленовой кислоты получают из семян льна. Сравнивая образец с соотношением подсолнечника, тыквы и льна 43/39/18 с образцом с таким же соотношением, но с цельным льном, можно сделать вывод, что лучшим оказался образец с цельным льном 43/39/18 (рис. 1).



Рис. 1. Значения массовой доли жира в образцах халвы, %

По результатам исследований массовой доли влаги, все образцы соответствуют норме и массовая доля жира в них не превышает 4 %, но лучшим соотношением подсолнечника, тыквы и льна является образец 70/19/11 (рис. 2).

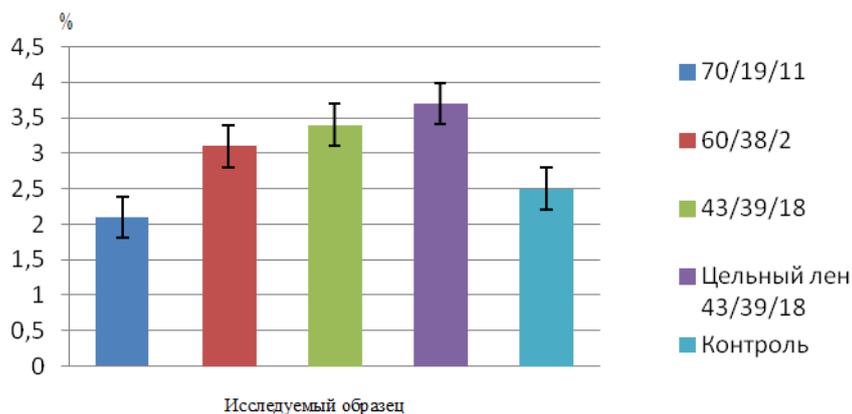


Рис. 2. Значения массовой доли влаги в халве, %

По истечении 45 дней после приготовления халвы показатели массовой доли влаги увеличились, но не превышали нормы. Лучшим образцом оказалось соотношение подсолнечника, тыквы и льна 70/19/11 (табл. 3).

Таблица 2
Массовая доля влаги через 45 дней после приготовления халвы

Соотношение подсолнечника, тыквы, льна	Массовая доля влаги, в %
70/19/11	2,5±0,008
60/38/2	3,5± 0,009
43/39/18	3,8±0,019
Цельный лен 43/39/18	3,9±0,013
Контроль	3,1±0,011

При хранении масличных семян в условиях относительно высокой температуры и повышенной влажности процесс гидролиза в масле протекает особенно интенсивно. Вследствие этого масло даже свежей выработки из семян, хранившихся в неблагоприятных условиях, может иметь высокое кислотное число.

По показателям кислотного числа пенообразователя Алтай образец (III) имеет наибольшее значение – 2,81 мг КОН/1 г. Образец (IV) имеет значение кислотного числа 2,37 мг КОН/1 г, образец (II) – 2,24 мг КОН/1 г, образец (I) пенообразователя Алтай имеет наименьшее значение кислотного числа 1,93 мг КОН/1 г (рис. 3).

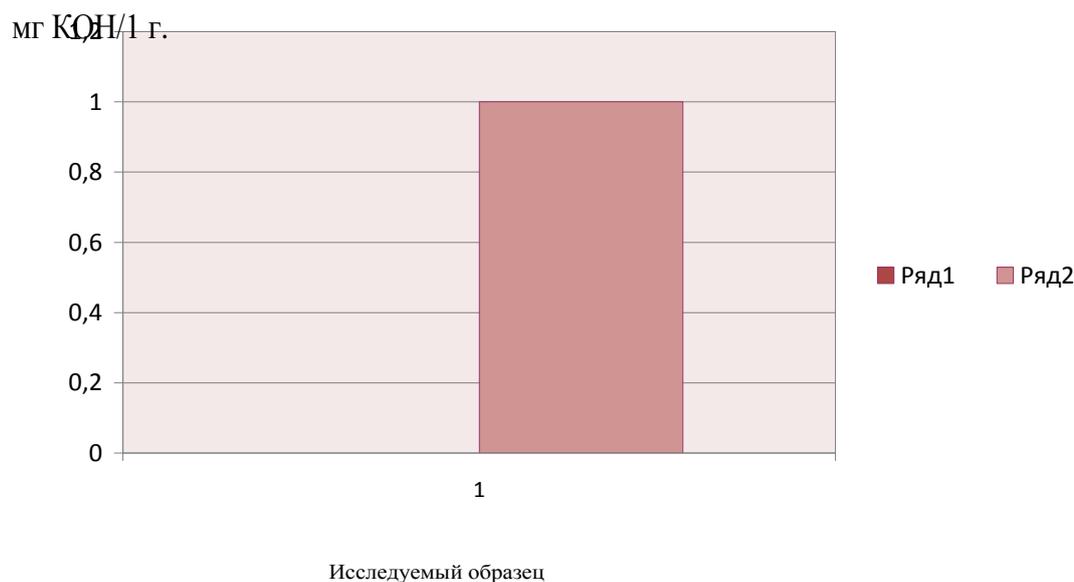


Рис. 3. Показатели кислотного числа халвы пенообразователя Алтай, мг КОН/1 г

По показателям кислотного числа пенообразователя Солодка образец (VII) имеет наибольшее значение кислотного числа, которое составило $3,02 \pm 0,01$ мг КОН/1 г. Образец (VIII) имеет значение кислотного числа $2,96 \pm 0,009$ мг КОН/1 г, образец (VI) – $2,85 \pm 0,007$ мг КОН/1 г и минимальное значение кислотного числа имеет образец (V) – $2,65 \pm 0,008$ мг КОН/1 г (рис. 4).

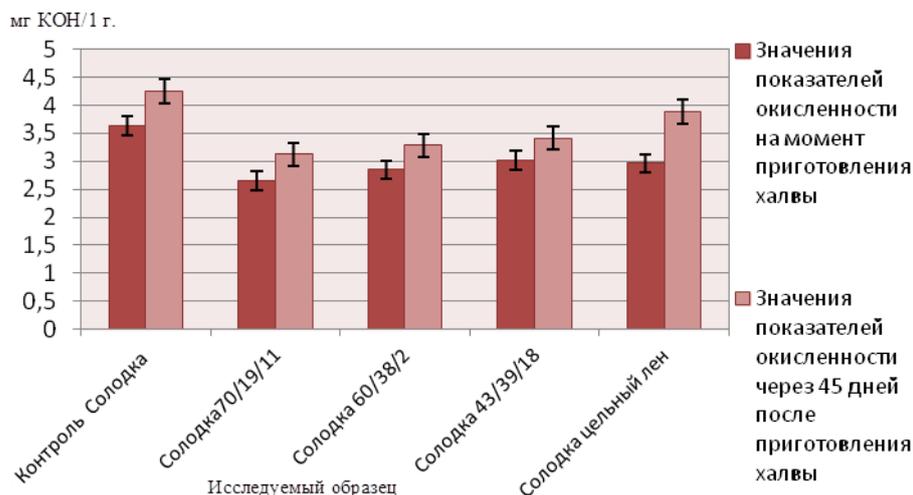


Рис. 4. Значение показателей кислотного числа пенообразователя Солодка, мг КОН/1 г

По показателям перекисного числа пенообразователя Алтай на рисунке 5 видно, что образец (III) имеет наибольшее значение перекисного числа – $3,22$ ммоль/кг. Образец (IV) имеет значение перекисного числа $1,46 \pm 0,004$ ммоль/кг, образец (VI) – $1,33$ ммоль/кг, минимальное значение перекисного числа пенообразователя Алтай на момент приготовления халвы имеет образец (I) – $1,13$ ммоль/кг.

По показателям перекисного числа пенообразователя Солодка на момент приготовления (рис. 6) максимальное значение имеет образец (VII) – $2,28$ ммоль/кг. Образец (VIII) имеет значение перекисного числа $1,54$ ммоль/кг, образец (VI) – $1,49$ ммоль/кг, минимальное значение перекисного числа пенообразователя Солодка на момент приготовления халвы имеет образец (V) – $1,17$ ммоль/кг.

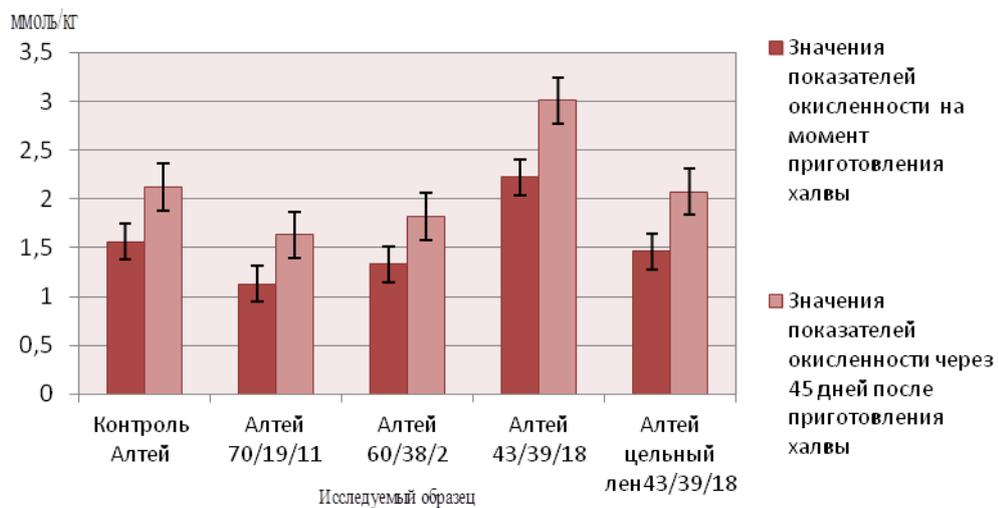


Рис. 5. Значение показателей перекисного числа халвы с пенообразователя Алтай, моль/кг

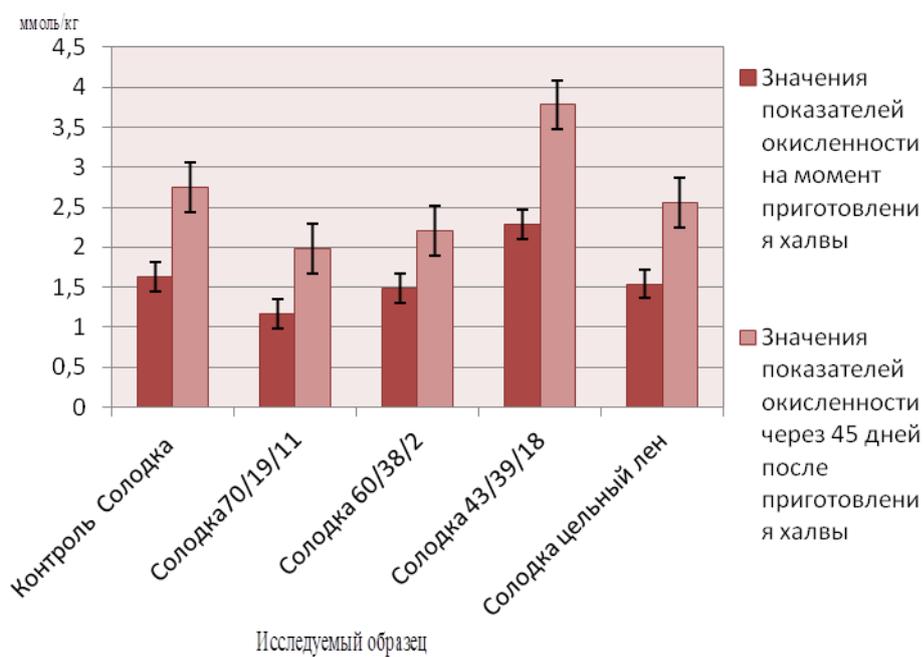


Рис. 6. Значение показателей перекисного числа пенообразователя Солодка, моль/кг

По показателям иодного числа пенообразователя Алтай наибольшее значение имеет образец (III) – 21,3 г I₂/ 100 г. Образец (IV) – 18,9 г I₂/ 100 г, образец (II) – 17,6 г I₂/100 г, минимальное значение иодного числа пенообразователя Алтай на момент приготовления халвы имеет образец (I) –15,6 г I₂/ 100 г.

По истечении 45 дней после приготовления, показатели иодного числа пенообразователя Алтай уменьшились (рис. 7).

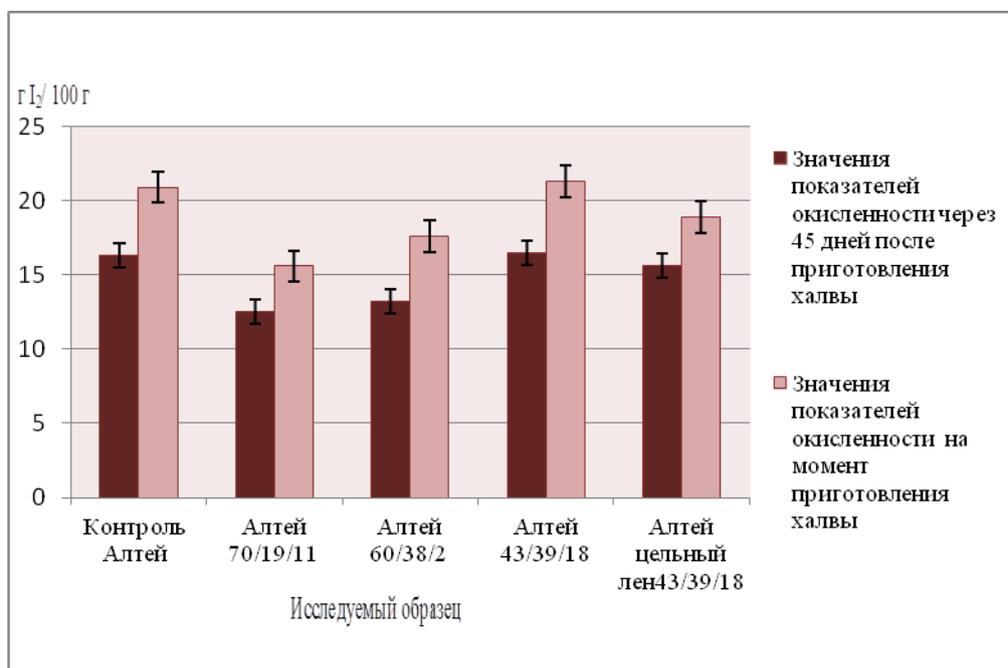


Рис. 7. Значение показателей иодного числа пенообразователя Алтай, г I₂/100 г

По показателям иодного числа пенообразователя Солодка наибольшее значение имеет образец (VII) – 24,6 г I₂/ 100 г. Образец (VIII) – 22,9 г I₂/ 100г, образец (VI) – 19,3 г I₂/ 100г, образец (V) –19,1 г I₂/ 100 г.

По истечении 45 дней после приготовления показатели иодного числа пенообразователя Солодка уменьшились (рис. 8).

По истечении 45 дней после приготовления значения перекисного числа в лучшем образце Алтай 70/19/11 в среднем увеличились на 14,4 %, значения кислотного числа – на 15,2 %, но значения иодного числа уменьшились – 12,5 % (Рис. 3–8).

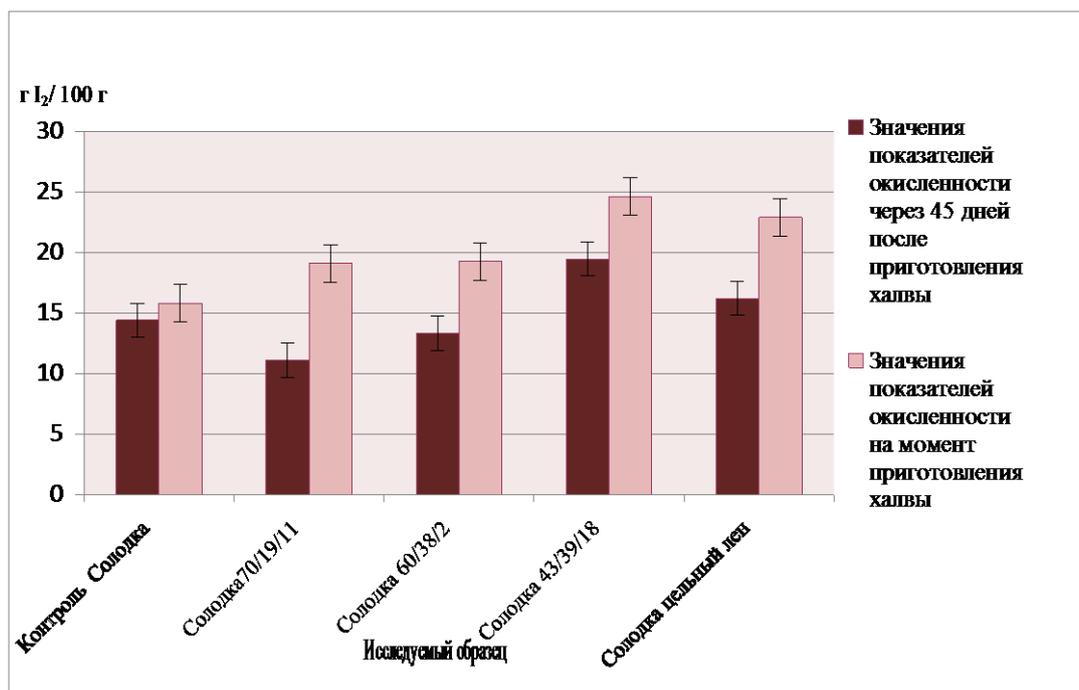


Рис. 8. Значение показателей иодного числа пенообразователя Солодка, г I₂/100 г

В процессе хранения, особенно при повышенной температуре и относительной влажности воздуха, наблюдается образование жира на поверхности халвы вследствие слабой связи его с остальными составными частями халвы. Выделившийся на поверхности жир легко подвергается окислению, приобретает прогорклый вкус, тем самым влияет на качество халвы.

При изучении перекисного, кислотного и иодного чисел в комбинированных образцах было установлено, что наилучшим сочетанием является вариант, в котором 70 % подсолнечника, 19 % тыквы и 11 % льна.

По результатам исследований установлено, что при применении пенообразователя Алтай показатели перекисного числа, кислотного и иодного имеют наименьшее значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Проведенные исследования показали целесообразность использования различных масличных культур, что дает возможность расширить ассортимент халвы.
2. Показано, что лучшими показателями качества обладает образец Алтай 70/19/11.

3. Выявлено, что на показатели кислотного и перекисного чисел влияет вид пенообразователя и физико-химические показатели, а именно массовая доля жира и влаги.

Список литературы

1. Кливер О. Г. Здоровый образ жизни. Рациональное питание [Текст] / О. Г. Кливер – Мурманск: Изд-во МГТУ, 2006. – 71 с.
2. Кочетова Л. И. Производство халвы: учеб. пособие / Л. И. Кочетова. – М.: Колос, 1994. – 144 с.
3. Кочетова Л. И. Производство халвы / Л. И. Кочетова. – М.: Пищевая промышленность, 1977. – 168 с.
4. Зуева Ю. В. Исследование и разработка процесса многослойного формования халвы: автореферат / Ю. В. Зуева. – М., 2008. – 146 с.
5. ГОСТ Р 53041-2008. Изделия кондитерские и полуфабрикаты кондитерского производства. Термины и определения; введ. 2010-01-01. – М.: Стандартинформ, 2009.
6. Зубченко А. В. Физико-химические основы технологии кондитерских изделий / А. В. Зубченко. – Воронеж: Воронежская государственная технологическая академия, 1997. – 147 с.
7. ГОСТ Р 50457-92. Жиры и масла животные и растительные. Метод определения кислотного числа и кислотности; введ. 1994-01-01. – М.: Госстандарт России, 2006.
8. ГОСТ Р 51487-99. Масла растительные и жиры животные. Метод определения перекисного числа; введ. 2001-01-01. – М.: Стандартинформ, 2008.
9. ГОСТ 5475-69. Масла растительные. Методы определения иодного числа. – Взамен ГОСТ 5475-59; введ. 1970-01-01. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2001.
10. ГОСТ 5899. Изделия кондитерские. Методы определения массовой доли жира. – Взамен ГОСТ 5899-63; введ. 1986.30.06. – М.: Стандартинформ, 2010.
11. ГОСТ 5900-73. Изделия кондитерские. Методы определения влаги и сухих веществ. – Взамен ГОСТ 5900-63; введ. 1975.01.01. – М.: Стандартинформ, 2012.
12. Математичне обґрунтування складання сумішей олій / Т. В. Матвєєва, П. Ф. Петік, З. П. Федякіна / Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2013. – № 63. – С. 26–28.

PHYSICO-CHEMICAL ANALYSIS OF THE COMBINED COMPOUND HALVA

Branovitskaia T. Y.¹, Kaybulaeva R. S.²

¹*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia*

²*Crimean gymnasium boarding school for gifted children, Bakhchisaray, Russia*

E-mail: rusana_kaybulaeva@mail.ru

Confectionery products are among the favorite products of the diet of children and adults, are in great demand among consumers. Analysis of the chemical composition of confectionery shows their low biological value, and therefore, they need a significant correction of the chemical composition in the direction of increasing the amount of nutrients while reducing energy value. According to GOST R 53041-2008, halva is a sugar confectionery product of fibrous-layered structure, based on caramel mass and roasted fried kernels of nuts, peanuts and/or fat-containing seeds, with or without the addition of food additives, flavorings, with mass the proportion of fat not less than 25 %. Edible fats play an important role in confectionery technologies, affecting texture, taste and aroma, nutritional properties and energy value.

According to the recommendations of the Institute of Nutrition of the RAMS, the ratio of polyunsaturated fatty acids (hereinafter PUFA) ω -6: ω -3 in the diet of a healthy person should be about (9–10): 1, for therapeutic nutrition – 3:1, 5:1 ; the ratio of PUFA to saturated fatty acids (NLC) should be 2:1. In nature, there is no fat that would match the formula of balanced fat. As a raw material for the creation of halva with a balanced fatty acid composition, we selected oil crops with the largest mass fraction of oleic acid – sunflower oil (*Helianthus annuus*), linoleic acid – ordinary pumpkin (*Cucurbita pepo*), linolenic acid – *Linum usitatissimum*. The purpose of this paper is to study the effects of various oil source sources and foaming agents on the safety and quality of halva.

Keywords: the subject of the study is halva. Polyunsaturated fatty acids, oilseeds, acid number, peroxide number, iodine number, fatty acid composition.

References

1. Cleaver O. G. *Healthy lifestyle. Rational nutrition*, Murmansk: MSTU Publishing House. (in Russ.) (2006).
2. Kochetova L. I. *Production of halva: teaching*, Moscow: Kolos. (in Russ.) (1994).
3. Kochetova L. I. *Production of halva*, Moscow: Food Industry (in Russ.) (1977).
4. Zueva Yu. V. *Research and development of the process of multilayer molding halva: author's abstract*, (PhD Thesis), Moscow: Moscow State University of Technology and Management (in Russ.) (2008).
5. GOST R 53041-2008. Confectionery and semi-finished products of confectionery production. Terms and Definitions; Enter. 2010-01-01 (Moscow, Standartinform, 2009).
6. Zubchenko A. V., *Physico-chemical basis of confectionery technology*, 147p. (Voronezh, 1997).
7. GOST R 50457-92. Fats and oils, animal and vegetable. Method for determining the acid number and acidity; Enter. 1994-01-01. (Moscow, Gosstandart of Russia, 2006).
8. GOST R 51487-99. Vegetable oils and animal fats. Method for determining the peroxide number; Enter. 2001-01-01. (Moscow, Standartinform, 2008).
9. GOST 5475-69. Vegetable oils. Methods for determining the iodine number. - Instead of GOST 5475-59; Enter. 1970-01-01. (IPK Publishing House of Standards, Moscow, 2001).
10. GOST 5899. Confectionery. Methods for determining the mass fraction of fat. - Instead of GOST 5899-63; v.1986.30.06. (Moscow, Standartinform, 2010).
11. GOST 5900-73. Confectionery. Methods for determination of moisture and dry substances. - Instead of GOST 5900-63; Enter. 1975.01.01. (Moscow, Standartinform, 2012).
12. Matveev T. V., Petik P. F., Fedyakina Z. P. Mathematicians obgruntuvannya warehousing sumyshey oily, *East-European Journal of Advanced Tenology*, **63**, 26 (2013). (in Russ.)

УДК 577.152.1:544.478.32

**ВЛИЯНИЕ МОРФОЛОГИИ ПОДЛОЖКИ НА КИНЕТИКУ
ПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ ГИДРОХИНОНА В СИСТЕМЕ С
ИММОБИЛИЗОВАННЫМ ФЕРМЕНТОМ, ЭКСТРАГИРОВАННЫМ ИЗ
КОРНЕПЛОДОВ РЕДЬКИ ЧЕРНОЙ**

Вяткина О. В., Аралкина М. В., Аралкин О. Л., Бажин В. Ю., Прошина И. В.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: oksana_yyatkina@list.ru*

Изучены кинетические параметры реакции пероксидазного окисления гидрохинона в системах с ферментом, иммобилизованным на силикагелях, полученных из кремниевой кислоты, осажденной при различных рН. Определены условия иммобилизации пероксидазы (время сорбции, концентрация фермента в растворе) на исследованных силикагелях, при которых фермент максимально активен в реакции окисления гидрохинона пероксидом водорода. Показано, что при иммобилизации пероксидазы на водонерастворимой подложке морфология последней определяет характер сорбции фермента, а следовательно, и каталитическую активность полученных ферментных препаратов.

Ключевые слова: пероксидаза, иммобилизация, гидрохинон, кинетические параметры.

ВВЕДЕНИЕ

Пероксидаза – фермент, относящийся к гемсодержащим гликопротеидам, катализирующим реакции оксидазного, пероксидазного и оксигеназного окисления субстратов. Практическое применение пероксидазы обусловлено такими ее свойствами, как хорошая растворимость в воде, высокая специфичность по субстрату-окислителю, широкий спектр биологической, в том числе антиоксидантной активности. Однако нативная пероксидаза имеет ряд недостатков, а именно: высокую чувствительность к внешним факторам (температуре, кислотности среды), неустойчивость при хранении. Решением части указанных проблем является иммобилизация фермента на водонерастворимых подложках. В качестве подложек весьма перспективно использование силикагелей, структура и свойства которых могут варьироваться в зависимости от рН синтеза [1]. Представленная работа посвящена исследованию влияния морфологии силикагелевой подложки на каталитическую активность иммобилизованной пероксидазы корнеплодов редьки черной относительно субстрата-восстановителя – гидрохинона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись препараты с пероксидазной активностью, полученные методом сорбции фермента, экстрагированного из корнеплодов редьки черной на силикагелевых подложках. Экстракцию фермента фосфатным буфером (рН=7) из очищенного и измельченного растительного сырья проводили по методике, описанной Селибером без дальнейшей очистки [2]. Содержание нативной пероксидазы в фосфатно-буферном экстракте, оцененное по количеству каталитически активных центров ферри-порфирина (далее – а. ц.) в единице объема, которое определяли фотоколориметрически ($\lambda=400$ нм, $l=2$ см, $\epsilon_{400}=9,6 \cdot 10^4 \frac{\text{л}}{\text{моль} \cdot \text{см}}$)

[3], составило 620 нмоль/л. В качестве субстрата-восстановителя использовали гидрохинон, концентрации которого варьировали в диапазоне $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л и контролировали фотоколориметрически по реакции с железом(III) в присутствии *o*-фенантролина ($\lambda=540$ нм, $l=1$ см) [4]. Субстрат-окислитель – пероксид водорода (фармакопейный), концентрация – 0,05 моль/л. Точную концентрацию раствора пероксида водорода устанавливали методом перманганатометрического титрования.

В качестве водонерастворимых подложек для иммобилизации фермента были использованы силикагели, полученные из кремниевой кислоты, осажденной при различных рН. Для получения силикагелей в химические стаканы приливали силикатный клей «Жидкое стекло» (марка Б, силикатный модуль 2,6–3,0) с исходным рН=12 и разбавляли его 1:3 дистиллированной водой при тщательном перемешивании. После чего, не прекращая перемешивания, понижали рН системы до 10 и 2 соответственно добавлением к полученному золю по каплям раствора 6М соляной кислоты. Образовавшиеся осадки поликремниевой кислоты промывали дистиллированной водой до удаления хлорид-ионов, наличие которых проверяли по качественной реакции с нитратом серебра. Промытые осадки помещали в чашку Петри и высушивали при температуре 150 °С. Высушенные ксерогели растирали в фарфоровой ступке и просеивали через контрольные сита, получая фракцию с зернением 0,25 мм, используемую в дальнейших исследованиях.

В ходе ранее проведенных исследований нами были определены оптимальные условия иммобилизации фермента методом его сорбции из фосфатно-буферных экстрактов на рассматриваемых в работе силикагелях. Препараты, полученные в таких условиях, обладали наибольшей по сравнению с другими пероксидазной активностью, определенной по гидрохинону [5]. Был установлен характер сорбции и степень связывания фермента с подложкой [6]. Так, для иммобилизации пероксидазы на силикагель с рН осаждения кремниевой кислоты 10 готовили систему, состоящую из 10 г силикагеля, 70 мл фосфатно-буферного экстракта пероксидазы (рН=7), 105 мл дистиллированной воды (молярная концентрация активных центров фермента в жидкой фазе сорбционной системы 248 нмоль/л) и оставляли на 60 мин. По истечении времени раствор фильтровали и твердую фазу сушили на воздухе при комнатной температуре. В результате был получен материал, содержание активных центров фермента в 1 г которого, по данным сорбционных исследований, составляло 2,5 нмоль. Для иммобилизации пероксидазы на силикагель, полученный при рН=2, готовили систему, состоящую

из 5 г силикагеля, 42 мл фосфатно-буферного экстракта пероксидазы (рН=7), 165 мл дистиллированной воды (молярная концентрация активных центров фермента в жидкой фазе сорбционной системы 124 нмоль/л). По истечении 120 мин. экспозиции твердую фазу отделяли фильтрованием и высушивали. В результате получали материал, содержащий 3 нмоль активных центров фермента в 1 г.

Активность исследуемых ферментных препаратов определяли по начальной скорости окисления субстрата-восстановителя – гидрохинона. За единицу активности (е. а.) принимали количество гидрохинона (мкмоль), каталитически окисленного на протяжении 1 минуты одним мкмоль а. ц. фермента (нативного или сорбированного на подложке):

$$A = \frac{\Delta C(\text{гидрохинона, мкмоль/л}) \cdot V(\text{реакционной смеси, л})}{\nu(\text{а.ц. фермента, мкмоль}) \cdot t(\text{мин})}; \quad (1)$$

Кинетика окисления гидрохинона пероксидом водорода в присутствии нативой пероксидазы редьки черной была изучена нами ранее [7]. Для формирования гетерогенных каталитических систем по 1 г ферментных препаратов, полученных иммобилизацией пероксидазы на силикагелях в оптимальных условиях, вносили в водные растворы, содержащие различные концентрации гидрохинона ($1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л) и 0,05 моль/л пероксида водорода (объем жидкой фазы 50 мл). Выдерживали системы 10 мин., затем инактивировали фермент введением в систему 1 мл 1М серной кислоты (рН_{системы} ≈ 1), после чего катализатор удаляли фильтрованием, в фильтрате определяли остаточные концентрации гидрохинона фотоколориметрически.

Экспериментальные данные использовали для расчета начальных скоростей реакции (w). Эффективные кинетические параметры – порядок ($n_{эфф}$) и константу скорости реакции ($k_{эфф}$) – определяли графическим методом в координатах Вант-Гоффа. Для расчета максимальной скорости ферментативной реакции (w_{max}) и константы Михаэлиса (K_m) использовали координаты Лайнуивера – Берка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения каталитической активности иммобилизованного фермента в исследованных системах показаны на рис. 1–4, определенные графическими методами кинетические параметры пероксидазного окисления гидрохинона сведены в табл. 1.

Как показано в табл. 1, активность пероксидазы, иммобилизованной на силикагеле, осажденном при рН=10, в оптимальных условиях возросла по сравнению с тем же ферментом, иммобилизованным на силикагеле, осажденном при рН=2, и нативным ферментом. Вероятнее всего, это связано с тем, что изменение рН осаждения силикагеля ведет к изменению его структурных характеристик и, следовательно, механизма сорбции пероксидазы. Как известно, активность ферментного препарата определяется не только количеством фермента на подложке, но и конформацией его молекул, и поэтому она будет существенно зависеть от способа связывания фермента подложкой [8].

Таблица 1
Кинетические параметры пероксидазного окисления гидрохинона

Пероксидаза	$k_{эфф}$	$n_{эфф}$	w_{max} , МОЛЬ/Л·С	K_m , МОЛЬ/Л	A, е. а.
Нативная	$1,1 \cdot 10^{-4}$	≈ 1	$4,1 \cdot 10^{-6}$	$0,7 \cdot 10^{-2}$	$1,6 \cdot 10^2$
Иммобилизованная на силикагеле, осажденном при pH=10	$5,0 \cdot 10^{-2}$	0,9	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$1,7 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^4$
Иммобилизованная на силикагеле, осажденном при pH=2	$1,7 \cdot 10^{-3}$	≈ 1	$3,5 \cdot 10^{-4}$	$20 \cdot 10^{-2}$	$3,2 \cdot 10^2$

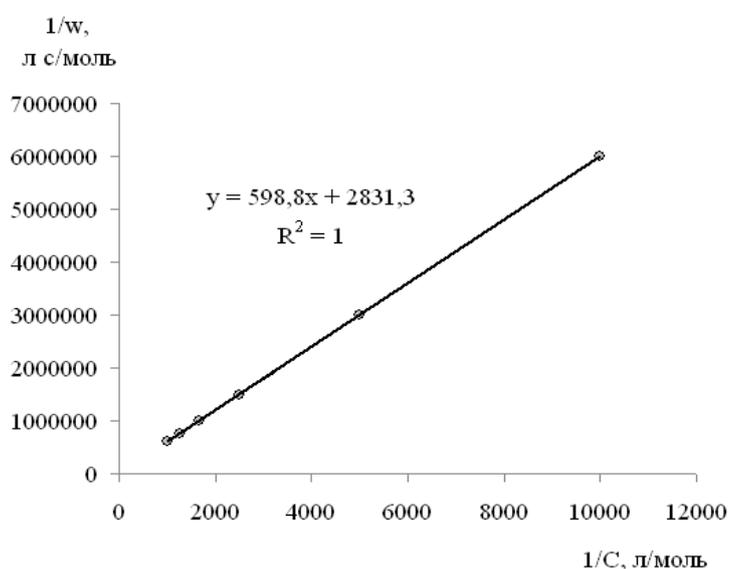


Рис. 1. Зависимость начальных скоростей реакции окисления гидрохинона в системах с пероксидазой, иммобилизованной на силикагеле, осажденном при pH=2, от концентрации субстрата в координатах Лайнуивера – Берка

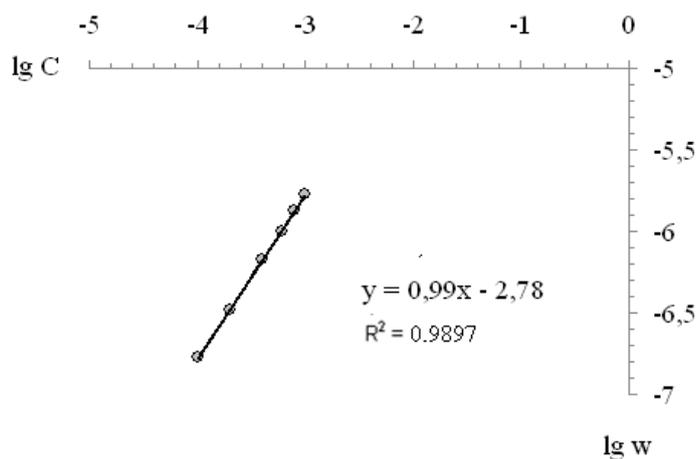


Рис. 2. Кинетика окисления гидрохинона в системе с пероксидазой, иммобилизованной на силикагеле, осажденном при рН=2, в координатах Вант-Гоффа

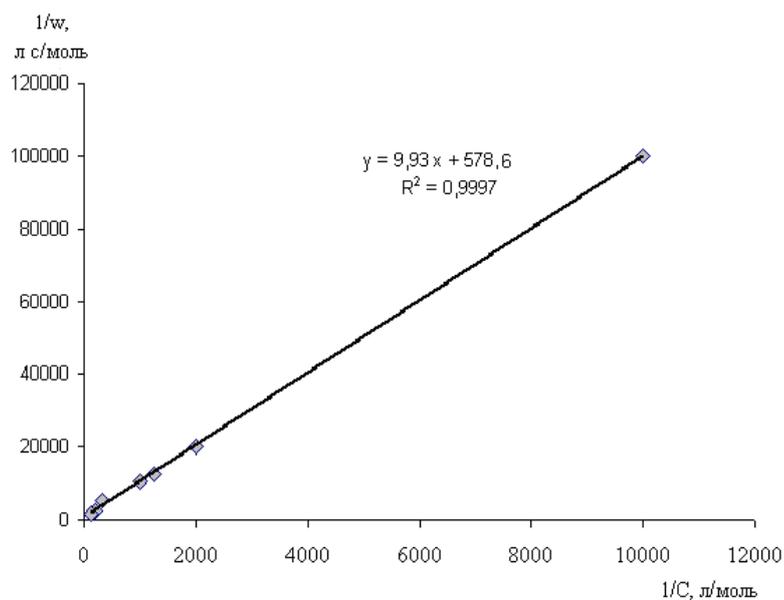


Рис. 3. Зависимость начальных скоростей реакции окисления гидрохинона в системах с пероксидазой, иммобилизованной на силикагеле, осажденном при рН=10, от концентрации субстрата в координатах Лайнуивера – Берка

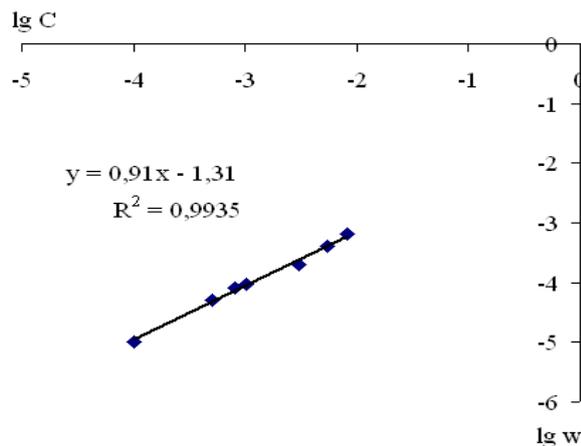


Рис. 4. Кинетика окисления гидрохинона в системе с пероксидазой, иммобилизованной на силикагеле, осажденном при рН=10, в координатах Вант-Гоффа

Ранее проведенные нами исследования показали, что формирование монослоя адсорбата на подложке, осажденной при рН=10, происходит в диапазоне концентраций фермента в растворе от 240 нмоль/л до 310 нмоль/л, тогда как на силикагелях, осажденных при рН=2, в диапазоне 60–190 нмоль/л (рис. 5). Это, очевидно, связано с сорбцией молекул пероксидазы не только на поверхности силикагеля, осажденного при рН=10, но и в порах, соизмеримых с молекулярными размерами фермента. Как правило, формирование полимолекулярных слоев фермента на поверхности подложек ведет к уменьшению активности полученных препаратов, поэтому оптимальные условия синтеза ферментного препарата и предполагали его сорбцию в системе, где сформированный монослой, и тем более полислои, отсутствуют.

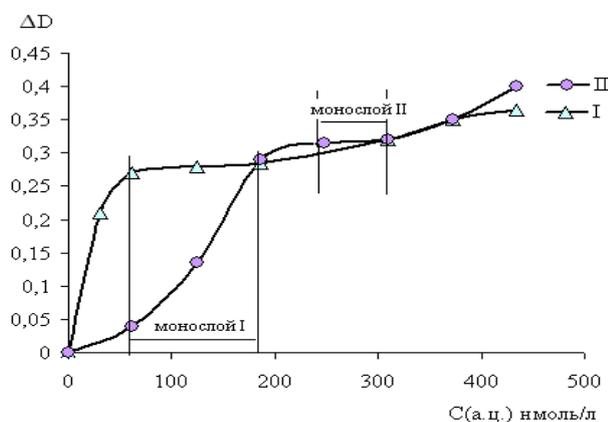


Рис. 5. Влияние рН синтеза силикагелевой подложки на механизм сорбции из фосфатно-буферных растворов пероксидазы редьки черной [6]

I – рН осаждения силикагеля 2; II – рН осаждения силикагеля 10

Для определения поверхностной структуры силикагелей был проведен анализ синтезированных образцов методом растровой электронной микроскопии. В результате были четко показаны морфологические различия между силикагелями с рН осаждения 10 и рН осаждения 2. На микрофотографии (рис. 6) видно, что диапазон диаметров пор материала, полученного при рН=2, достаточно широк и колеблется в пределах от 0,9 до 12,9 микрон. Вероятно, что данная структура силикагеля способствует образованию на его поверхности монослоя фермента из-за ограниченной сорбционной доступности пор, что ведет к резкому снижению активности данного ферментного препарата по сравнению с другим образцом.

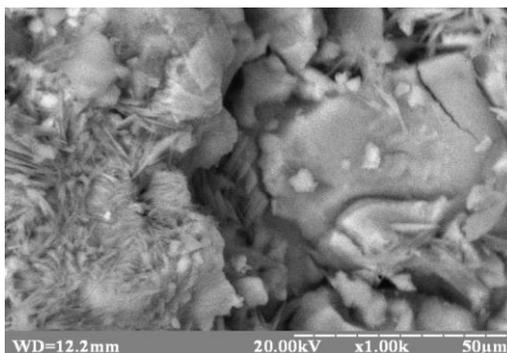
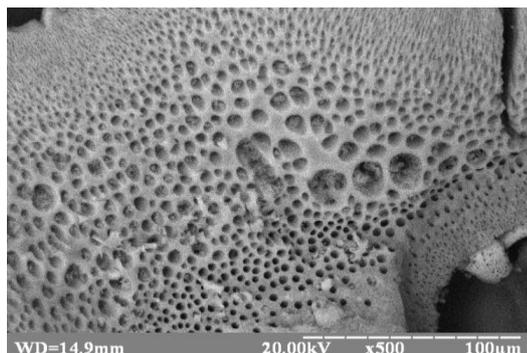


Рис. 6. Микрофотография поверхности силикагеля, полученного при рН=2

Рис. 7. Микрофотография поверхности силикагеля, полученного при рН=10

Поверхность силикагеля с рН осаждения 10 представляет собой совокупность нескольких субфаз (рис. 7), в частности игольчатых выростов на поверхности основной субфазы. Также наблюдается наличие множества вторичных пор, поэтому можно предположить высокую удельную площадь поверхности данного материала. Подобная неоднородная структура поверхности практически исключает образование монослоя адсорбата на поверхности, что позволяет достичь максимальных значений активности фермента, иммобилизованного на поверхности данного силикагеля

Отличия в активностях исследуемых ферментных препаратов коррелируют со значениями кинетических параметров каталитического окисления гидрохинона (табл. 1). В ходе эксперимента было установлено, что максимально эффективным катализатором в исследуемом процессе является пероксидаза, иммобилизованная на силикагеле, синтезированном при рН=10. Скорость ферментативного окисления гидрохинона w_{max} на порядок выше, чем во второй гетерогенной системе, и на три порядка превышает значение в гомогенной системе с нативным ферментом, аналогичная тенденция прослеживается и в случае со значениями эффективных констант скорости $k_{эф.}$. В то же время селективность относительно субстрата-восстановителя данного катализатора исходя из значения константы Михаэлиса K_m повышается по сравнению с ферментом, иммобилизованным на силикагеле с рН

осаждения 2. По-видимому, это связано с обратимостью сорбции фермента на последней подложке и возможностью сорбции гидрохинона на освободившейся поверхности [6]. Установлено, что максимально избирателен относительно гидрохинона нативный фермент.

Эффективный порядок реакции окисления гидрохинона в системе с пероксидазой, иммобилизованной на силикагеле, осажденном при pH=10, составил 0,9 (рис. 4). Вероятно, отличие порядка реакции от единицы, характерной в ферментативном катализе для данной области концентраций субстрата, связано с отсутствием десорбции фермента с подложки в течение времени экспозиции системы при изучении кинетических параметров исследуемой реакции и вкладом силикагелевой матрицы в механизм каталитической реакции по сравнению с нативным ферментом [6]. Ранее было установлено, что в случае силикагеля, осажденного при pH=10, после выдерживания препарата иммобилизованного фермента в дистиллированной воде в течение 10 минут десорбция пероксидазы отсутствует, а 24-часовая экспозиция того же материала в дистиллированной воде показала десорбцию не более 10 % фермента, тогда как с силикагеля с pH осаждения 2 в аналогичных условиях десорбируется 70 % за первые 10 мин. экспозиции [6].

Таким образом, установлено, что при иммобилизации пероксидазы на водонерастворимой подложке морфология последней определяет механизм сорбции фермента и его степень связывания, а также каталитическую активность полученных ферментных препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлены зависимости кинетических параметров пероксидазного окисления гидрохинона от структурных характеристик силикагелевой матрицы и характера сорбции фермента на ней при иммобилизации.
2. Установлено, что иммобилизация пероксидазы на силикагелевой матрице методом физической сорбции повышает каталитическую активность фермента по сравнению с его нативной формой, но снижает избирательность относительно гидрохинона.

Список литературы

1. Чукин Г. Д. Химия поверхности и строение дисперсного кремнезема / Г. Д. Чукин. – М.: ООО «Принта», 2008. – 172 с.
2. Селибер Г. Л. Большой практикум по микробиологии / Г. Л. Селибер. – М.: Мир, 1962. – 492 с.
3. Рогожин В. В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов / В. В. Рогожин. – М.: ГИАРД, 2004. – С. 18.
4. Лурье Ю. Ю. Химический анализ производственных сточных вод / Ю. Ю. Лурье, А. И. Рыбникова. – М.: Химия, 1974. – С. 275–276.
5. Аралкин О. Л. Роль сорбционных взаимодействий фермент-силикагель в процессе получения пероксидазных катализаторов / О. Л. Аралкин, М. В. Биба, А. Н. Куньк, О. В. Вяткина // Научное сообщество студентов XXI столетия. Естественные науки: электронный сборник статей по материалам XXX студенческой международной заочной научно-практической конференции. (Новосибирск, апрель 2015). – № 4 (29). – С. 166–176.

6. Вяткина О. В. Влияние природы подложки на механизм сорбции пероксидазы редьки черной / О. В. Вяткина // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 239–247.
7. Вяткина О. Каталітична активність пероксидази редьки чорної щодо субстратів-відновників різної природи. / О. Вяткіна, І. Лаврентьева, М. Єрмакова // Вісник Львівського національного університету. – 2012. – В. 53. – С. 357–362.
8. Атякшева Л. Ф. Адсорбция и каталитические свойства пероксидазы / Л. Ф. Атякшева, Р. А. Овсянников, Е. С. Чухрай [и др.] // Журнал физической химии. – 2011. – Т. 85, № 2. – С. 377–383.

SUBSTRATE MORPHOLOGY INFLUENCE ON KINETICS OF HYDROQUINONE OXIDATION BY MEANS OF PEROXYDASE IN A SYSTEM WITH IMMOBILIZED ENZYME, EXTRACTED FROM ROOT CROP OF BLACK RADISH

Vyatkina O. V., Aralkina M. V., Aralkin O. L., Bazhin V. U., Proshina I. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: oksana_vyatkina@list.ru*

Wide use of peroxidase in science and technology is caused by a number of unique properties. However, the original peroxidase has significant drawbacks, namely: high sensitivity to external factors such as temperature and pH, as well as instability during storage. A solution of this problem is immobilization of the enzyme, i.e. attachment of the enzyme in active form to the insoluble base. Silica gel is used as such base. Its structure and properties depends on the pH of synthesis. The present work is devoted to study the influence of the structure of a silica gel base on the catalytic activity of immobilized peroxidase of black radish root relative to the substrate of the reducing agent hydroquinone. The kinetic parameters of the reaction of peroxidase oxidation of hydroquinone in systems with an enzyme immobilized on silica gels with different creation pH were studied. There were obtained enzyme preparations with height peroxidase activity relative to hydroquinone by the method of physical sorption in static conditions. It is shown that when peroxidase is immobilizing on a water-insoluble base, the base structure determines the mechanism of sorption of the enzyme and its degree of binding, and consequently, the catalytic activity of the resulting enzyme preparations. Herewith, increases the activity of the immobilized enzyme relative to hydroquinone, and decreases the selectivity because the parallel sorption of the substrate on the base is possible. It has been determined that peroxidase immobilized on silica gel synthesized at pH = 10 has maximal activity in the oxidation reaction of hydroquinone.

Keywords: peroxidase, immobilization, hydroquinone, kinetic parameters.

References

1. Chykin G. D. *Chemistry of surface and structure of silica*, 172 p. (Typography Paladin, "Printa", Moscow, 2008). (in Russ.).
2. Seliber G. L., *Major microbiology practical work*, 492 p. (Mir, Moscow, 1962). (in Russ.).

3. Rogojin V. V., *Peroxidase as a component of antioxidant system of living organisms*, 240 p. (GIARD, Moscow, 2004). (in Russ.).
4. Lurie Yu. Yu., *Chemical analysis of industrial wastewater*, 275–276 p. (Chemistry, Moscow, 1974) (in Russ.).
5. Aralkin O. L., Biba M. V., Кynik A. N., Vяткина O. V. Functional of sorptional coupling enzymatic-silica gel in a process of getting catalysts of peroxidase. Scientifically association students of 21-th centenary. *Natural sciences: Electronic collection of articles by materials of 30th international students correspondence of scientific and practical conference*, **4 (29)**, 166 (2015).
6. Vяткина O. V. Influence of nature of undercoat on mechanism sorption black radish peroxidase, *Scientifically note V. I. Vernadsky's Tavrida National University*, **25 (64), 4**, 239 (2012).
7. Vяткина O. V., Lavrienteva I., Ermakova M. Catalytic activity of black radish peroxides relatively of reduction substrates with different nature, *Scientific Messenger of Lviv national university*, **53**, 357 (2012).
8. Atyaksheva L. F., Ovsannikov R. A., Chuhrai E. S. [et al.] Adsorption and catalytic properties of peroxidase, *Russian Journal of Physical Chemistry*, **85, 2**, 377 (2011).

УДК 663.223/.253.34: 613.292

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ И ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ БЕЛЫХ ИГРИСТЫХ ВИН РАЗЛИЧНЫХ СТРАН- ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Гришин Ю. В.¹, Аристова Н. И.¹, Панов Д. А.²

¹ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН», Ялта, Республика Крым, Россия

*²Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: akademik_n@mail.ru*

Проведен анализ антиоксидантной активности и компонентного состава фенольных соединений белых игристых вин различных стран-производителей методами амперометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Найден диапазон варьирования антиоксидантной активности фенольных соединений, в том числе их мономерных форм в различных группах (брют, полусухие и полусладкие) игристых белых вин. Установлено, что независимо от страны-производителя белых игристых вин наблюдается одна и та же закономерность: с увеличением содержания фенольных веществ и их мономерных форм увеличивается антиоксидантная активность. Методом регрессионного анализа выведена корреляционная зависимость между показателем антиоксидантной активности и массовой концентрацией фенольных веществ, а также между антиоксидантной активностью и суммой мономерных форм фенольных соединений.

Ключевые слова: вино, антиоксидантная активность, фенольные вещества; мономерные формы, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ); фотоколориметрия; амперометрия.

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы накоплено значительное количество данных о пользе тихих виноградных натуральных вин, главным образом благодаря наличию в них биологически активных веществ фенольной природы и проявляемой ими антиоксидантной активности. Фенольные соединения обладают антиоксидантным действием и по своей активности превосходят витамины С, Е и β-каротин. Они вступают в реакцию со свободными радикалами, образующимися в митохондриях клеток человека во время окислительного стресса, и вызывают их полную или частичную инактивацию [1–5].

Белые игристые вина пользуются большим спросом среди потребителей, поэтому выявление их потенциала для здоровья человека – насущная задача энологических исследований. Врачи отдают предпочтение красным столовым винам, но белые вина по отдельным характеристикам могут их превосходить. Так, если содержание антиоксидантов в красных винах больше, то в белых они эффективнее, поскольку их молекулы меньше по размеру и легче проникают в ткани организма. Белое вино имеет хороший профилактический эффект, защищая

митохондрии, снижая риск сердечных приступов. Белые игристые вина полезны для дыхания, поскольку они содержат фенольные вещества, препятствующие действию свободных радикалов на легочную ткань, помогая вентиляции легких [6, 7].

Авторами работ [8–10] установлено, что белые вина защищают митохондрии и способствуют более полному энергоснабжению клеток, а кроме того, известны исследования антиоксидантной активности белых столовых виноматериалов, вин и соков.

В результате исследований авторов работы [11] установлено, что белые вина обладают высоким содержанием биологически активных веществ, в частности в белом столовом вине «Рислинг» их обнаружено около 100.

В работах [12, 13] проведено исследование антиоксидантной активности фотоколориметрическим методом с использованием DPPH для некоторых образцов бразильских игристых вин и показано влияние «sur lie» (контактирования вин с дрожжами) на антиоксидантную активность.

В институте «Магарач» совместно с Национальным фармацевтическим университетом (г. Харьков) была исследована *in vivo* антиоксидантная активность виноматериалов из винограда сорта Ркацители, приготовленных по традиционной технологии («по-белому» способу). В результате проведенных исследований было установлено, что белые столовые вина проявляют достаточно высокую стресс-протекторную, гепатопротекторную и антиатерогенную активность при эмоционально-болевым стрессе [14].

Известно, что состав и активность фенольных соединений в винах определяются как способом приготовления, так и временем выдержки и условием хранения готовой продукции. В работах [15, 16] показано, что при бутылочном хранении антиоксидантная активность белых вин практически не снижается, в красных же винах в процессе хранения, наоборот, наблюдается снижение антиоксидантной активности. В красных виноматериалах наибольшее снижение количества полифенолов, особенно антоцианов, отмечено на 4–5-м месяцах хранения, а в течение одного года – заметное снижение количества галловой кислоты (более чем в два раза), катехина (в 2,1 раза), эпикатехина (в 1,6 раза), кафтаровой кислоты – (в 2 раза), отсутствие *транс*-ресвератрола привело к уменьшению антиоксидантной активности красных виноматериалов.

В то же время данных об антиоксидантной активности и компонентном составе фенольных веществ белых игристых вин в отечественной научной литературе недостаточно, поэтому целью настоящего явилось определение антиоксидантной активности, а также качественного и количественного состава фенольных веществ белых игристых вин различных стран производителей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данная работа выполнялась в рамках государственного задания ФАНО России (№ 0833-2015-0001).

Объектами исследований являлись образцы различных групп белых игристых вин, произведенных в России, Франции, Испании и на Украине. Отбор проб вин осуществляли по ГОСТ 31730-2012 [17], подготовку проб – по ГОСТ 26671-2014

[18]. Образцы исследуемых игристых вин подвергали процедуре предварительной дегазации на ультразвуковой бане BADELIN SONOREX (Германия). Физико-химические показатели образцов игристых вин, определенные стандартизированными и принятыми в виноделии методами, соответствовали ГОСТ 33336-2015 [19–23]. Антиоксидантную активность определяли амперометрическим методом на анализаторе антиоксидантной активности веществ Цвет ЯУЗА-01-АА (НПО «Химавтоматика», РФ) [21–22]. Массовую концентрацию фенольных веществ определяли фотоколориметрическим методом [23]. Качественный и количественный состав мономерных форм фенольных веществ в объектах исследования определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием хроматографической системы Agilent Technologies (модель 1100, США) с диодно-матричным детектором и по аналогичным методикам [23]. Для разделения веществ полифенольной природы использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 2,1×150 мм, заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой с размером частиц сорбента 3,5 мкм. Хроматографирование проводили в градиентном режиме элюентом: метанол и 0,6 % водный раствор трифторуксусной кислоты. Скорость потока элюента – 0,25 мл/мин. Объем вводимой пробы составил 1 мкл. Идентификацию компонентов производили по их времени удерживания. Расчет количественного содержания индивидуальных компонентов производили с использованием калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. Содержание кафтаровой кислоты определяли в пересчете на кофейную кислоту. В качестве стандартов использовали галловую кислоту, кофейную кислоту, (+)-D-катехин, кверцетин дигидрат (Fluka Chemie AG, Швейцария) и *транс*-ресвератрол, (–)-эпикатехин, сиреневую кислоту фирмы Sigma-Aldrich, Швейцария. Все определения проводили в трех повторностях. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами математической статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе представлены результаты исследований, проводимых в научно-исследовательском институте виноградарства и виноделия «Магарач».

Известно, что технология производства отечественных игристых белых вин включает в себя брожение подсахаренных белых виноматериалов: белый столовый виноматериал → вторичное брожение → игристое вино [24]. Важным показателем качества вина является содержание фенольных соединений, поэтому вначале фотоколориметрическим методом определяли массовую концентрацию фенольных веществ. Значение антиоксидантной активности определяли амперометрическим методом (Табл. 1).

Таблица 1
Массовая концентрация фенольных веществ и антиоксидантная активность
игристых белых вин

№	Группы игристых вин	Наименование	Страна-производитель	Массовая концентрация фенольных веществ (по Trolox), г/дм ³	АОА (по Trolox), г/дм ³
1	Брют	Вино игристое брют белое «Золотая балка»	Россия, Республика Крым	0,78	0,32
2		Вино игристое коллекционное белое брют «Артемовск Вайнери»	Украина	0,63	0,29
3		«Moet Chandon Imperial Brut»	Франция	0,47	0,24
Среднее значение				0,63	0,28
4	Полусухие	Вино игристое полусухое белое «Золотая балка»	Россия, Республика Крым	0,85	0,31
5		Вино игристое выдержанное белое полусухое «Артемовск Вайнери»	Украина	0,75	0,30
6		«Freixenet Cava Carta Nevada Semi Seco»	Испания	0,83	0,30
Среднее значение				0,77	0,30
7	Полусладкие	Вино игристое полусладкое белое «Золотая балка»	Россия, Республика Крым	0,87	0,30
8		Вино игристое полусладкое мускатное белое «Золотая балка»	Россия, Республика Крым	1,95	0,54
9		Вино игристое выдержанное белое полусладкое «Артемовск Вайнери»	Украина	0,83	0,31
Среднее значение				1,22	0,38

Анализ полученных данных (Табл. 1) показал, что среди исследуемых групп игристых белых вин наибольшей антиоксидантной активностью и массовой концентрацией фенольных веществ характеризовалась группа полусладких вин, так, содержание фенольных веществ в них было в 1,9 раза (на 48 %) выше, чем в группе «игристые, брют», и в 1,58 раза (на 37 %) выше, чем в группе «полусухие». Значение антиоксидантной активности в белых полусладких выше в 1,36 раза (на 26 %), чем в группе «брют», и в 1,27 раза (на 21 %) – в полусухих. Следует отметить, что наименьшее содержание фенольных веществ и, соответственно, наименьшее значение антиоксидантной активности наблюдается для «Moet Chandon Imperial Brut» (Франция). Наибольшее значение антиоксидантной активности и содержание фенольных веществ отмечено в игристом полусладком мускатном белом вине «Золотая балка» (Россия).

В табл. 2 представлен качественный и количественный состав мономерных форм фенольных соединений белых игристых вин, идентифицированных с помощью ВЭЖХ. Основные мономерные формы фенольных соединений включают: оксикоричные и оксибензойные кислоты, флаван-3-олы и флавоны.

Таблица 2

Мономерные формы фенольных соединений игристых белых вин различных групп

Показатели	Массовая концентрация, <u>мин±макс</u> , мг/дм ³ ср.		
	Игристое брют белое	Игристое полусухое белое	Игристое полусладкое белое
Оксикоричные (кафтаровая, каугаровая, <i>n</i> -кумаровая) кислоты	<u>11,5 – 36,4</u> 22,5	<u>20,1 – 33,9</u> 27,9	<u>16,6 – 93,1</u> 45,6
Оксибензойные (галловая, сиреневая) кислоты	<u>2,5 – 4,1</u> 3,4	<u>4,8 – 7,3</u> 6,4	<u>5,0 – 13,6</u> 9,8
Флаван-3-олы ((+)-D-катехин, (-)-эпикатехин)	<u>1,6 – 5,6</u> 3,6	<u>1,7 – 6,6</u> 3,5	<u>2,1 – 14,7</u> 7,8
Флавоны (кверцетин, кверцетин-3-О-гликозид)	<u>0,5 – 0,9</u> 0,7	<u>0,4 – 0,9</u> 0,7	<u>0,4 – 5,6</u> 2,3
Сумма мономерных форм фенольных веществ	<u>14,0 – 42,4</u> 28,7	<u>31,8 – 43,8</u> 38,4	<u>28,5 – 124,2</u> 65,5

Увеличение значения массовой концентрации мономерных форм фенольных соединений по группам игристых вин происходит в следующей последовательности: игристые брют (28,7 мг/дм³) → игристые полусухие (38,4 мг/дм³) → игристые полусладкие (65,5 мг/дм³). Наибольшее значение концентрации мономерных фенольных соединений было отмечено в группе белых игристых полусладких вин в 2,3 раза выше, чем в группе «брют», и в 1,7 раза выше,

чем в группе полусухих. Доля мономерных форм фенольных соединений в исследуемых группах игристых вин от общего содержания фенольных веществ составляет: брют – 46 %, полусухие – 48 %, полусладкие – 54 %. Следует отметить, что вина с большим содержанием оксикоричных и оксибензойных кислот отличаются и более высоким значением антиоксидантной активности.

Методом регрессионного анализа было получено уравнение регрессии, выражающее взаимосвязь массовой концентрации фенольных веществ различных групп игристых белых вин и их антиоксидантной активности (рис. 2):

$$y=0,172x+0,170, R^2=0,998,$$

где y – антиоксидантная активность, г/дм³;

x – массовая концентрация общих фенольных веществ, г/дм³;

R^2 – величина достоверности аппроксимации.

Также получено уравнение регрессии антиоксидантной активности и суммы мономерных форм фенольных веществ различных групп игристых белых вин, подтверждающее их взаимосвязь:

$$y=2,66x+0,201, R^2=0,998,$$

где y – антиоксидантная активность, г/дм³;

x – сумма мономерных форм фенольных веществ, г/дм³;

R^2 – величина достоверности аппроксимации.

Проведенный регрессионный анализ показал наличие положительной корреляционной зависимости между общим содержанием фенольных веществ и антиоксидантной активностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований найдено, что независимо от страны-производителя наблюдается единая закономерность: с увеличением массовой концентрации фенольных веществ и их мономерных форм в игристых белых винах увеличивается и их антиоксидантная активность.

Для повышения антиоксидантной активности игристых белых вин необходимым условием является регулирование технологических приемов и режимов производства, направленных на накопление и сохранение мономерных форм фенольных соединений.

Список литературы

1. Valdez L. B. Free radical chemistry in biological systems / L. B. Valdez, L. S. Arnaiz, J. Bustamante, S. Alvarez, L. E. Costa, A. Boveris // Biol. Res. – 2000. – Vol. 33(2). – P. 65–70.
2. Badershneider B. Antioxidants in white wine (cv. Riesling): I. Comparison of different testing methods for antioxidant activity / B. Badershneider, D. Luthria, A. L. Waterhouse, P. Winterhalter // Vitis. – 1999. – Vol. 38 (3). – P. 127–131.
3. Бодорев М. М. Антиоксидантная активность натуральных сухих вин как показатель качества / М. М. Бодорев, В. Б. Сучков, Ю. А. Тырсин // Научные труды XIII Международной научно-практической конференции «Стратегия развития пищевой промышленности». – М.: МГУТУ. – 2007. – В. 12, Т. 2. – С. 25–27.
4. Бодорев М. М. Антиоксидантные свойства и качество натуральных красных и белых сухих вин / М. М. Бодорев, В. П. Тихонов, Ю. А. Тырсин // Сб. материалов VI научно-практической

- конференции «Технологии и продукты здорового питания. Функциональные пищевые продукты». Ч. 1. – М.: МГУПП. – 2008. – С. 145–150.
5. Fuhman B. White wine red wine – like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine / B. Fuhman, N. Volkova, A. Soraski, M. Aviram // *J. of Agric. Food Chem.* – 2001. – Vol. 49. – P. 195–204.
 6. Renaud S. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease / S. Renaud, M. de Lorgeril // *Lancet.* – 1992. – Vol. 339. – P. 1523–1526.
 7. Лапин А. А. Определение антиоксидантной активности вин кулонометрическим методом (Научно-методическое пособие) / А. А. Лапин, Е. В. Горбунова, В. Н. Зеленков, М. К. Герасимов. – М.: РАЕН, 2009. – 64 с.
 8. Das D. K. Does white wine qualify for French Paradox? Comparison of the cardioprotective effects of red and white wines and their constituents: resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol. / K. D. Das, J. I. Dudley, I. Lekli, S. Mukherjee, M. Das, A. Bertelli // *J. Agric. Food Chem.* – 2008. – Vol. 56 (20). – P. 9362–9373.
 9. Ткаченко М. Г. Фенольный состав и антиоксидантная активность виноградных соков и виноматериалов / М. Г. Ткаченко, Л. М. Соловьева, Г. П. Зайцев, Ю. В. Гришин, В. Е. Мосолкова, Б. А. Виноградов // «Магарач»: Виноградарство и виноделие. – 2012. – № 4. – С. 29–31.
 10. Соловьева Л. М. Особенности фенольного состава и антиоксидантная активность белых столовых вин / Л. М. Соловьева, Ю. В. Гришин, Г. П. Зайцев // «Магарач»: Виноградарство и виноделие. – 2014. – № 3. – С. 38–39.
 11. Teissedre P. L. Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines / P. L. Teissedre, E. N. Frankel, A. L. Waterhouse, H. Peleg // *J. B. German Sci. Food Agricult.* – 1996. – Vol. 70. – P. 55–61.
 12. Stefenon C. A. Antioxidant activity of sparkling wines produced by Champenoise and Charmat methods / C. A. Stefenon, M. Colombo, C. de M. Bonesi, V. Marzarotto, R. Vanderlinde, M. Salvador, J. A. P. Henriques // *J. Food Chem.* – 2010. – Vol. 119. – P. 12–18.
 13. Stefenon C. A. Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees / C. A. Stefenon, C. de M. Bonessi, V. Marzarotto, D. Barnabe, F. R. Spinelli, V. Webber, R. Vanderlinde // *J. Food Chem.* – 2014. – Vol. 145. – P. 292–299.
 14. Биологически активные вещества винограда и здоровье. Монография / А. Л. Загайко, О. А. Красильникова, А. Б. Кравченко, М. В. Волощенко, Ю. А. Огай, Л. М. Соловьева, В. И. Мизин, И. В. Богадельников. – Харьков, 2012. – 404 с.
 15. Kallithraka S. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage / S. Kallithraka, M. I. Salacha, M. I. Tzourou // *J. Food Chem.* – 2009. – Vol. 113. – P. 500–505.
 16. Красные столовые вина: биохимия, технология, энотерапия. Монография/ Под ред. А. М. Авидзба, Н. М. Агеевой, В. А. Маркосова. – Краснодар: ФГБНУ СКЗНИСВиВ, 2016. – 192 с.
 17. ГОСТ 31730-2012. Продукция винодельческая. Правила приемки и методы отбора проб. – М.: Стандартинформ, 2013. – 12 с.
 18. ГОСТ 26671-2014. Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов. – М.: Стандартинформ, 2014. – 10 с.
 19. Аристова Н. И. Методики выполнения измерений физико-химических показателей для контроля качества винопродукции / Н. И. Аристова // «Магарач»: Виноградарство и виноделие. – 2014. – № 4. – С. 36–39.
 20. ГОСТ 33336-2015. Вина игристые. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2015. – 11 с.
 21. ГОСТ Р 54037-2010. Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках. – М.: Стандартинформ, 2011. – 12 с.
 22. Яшин А. Я. Новый прибор для определения антиоксидантной активности пищевых продуктов, биологически активных добавок, растительных лекарственных экстрактов и напитков / А. Я. Яшин, Я. И. Яшин // Приборы и автоматизация. – 2004. – № 11. – С. 45–48.
 23. ГОСТ Р 4.1. 1672-03 Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 184 с.

24. Сборник основных правил, технологических инструкций и нормативных материалов по производству винодельческой продукции. Разработано Всероссийским научно-исследовательским институтом пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Россельскохозяйственной академии, утв. 05.05.98. – М.: Пищепромиздат, 1998. – 242 с.

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOLIC SUBSTANCES OF WHITE WINES VARIOUS MANUFACTURING COUNTRIES

Grishin Yu. V.¹, Aristova N. I.¹, Panov D. A.²

¹Government-Financed Establishment of the Republic of the Crimea “National Research Institute for Vine and Wine “Magarach”, Crimea, Russian Federation

*²V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: akademik_n@mail.ru*

An analysis of the antioxidant activity and component composition of phenolic compounds of white sparkling wines of various wine-producing countries using amperometry and high-performance liquid chromatography was carried out.

The objects of research were samples of various groups of white sparkling wines produced in Russia, France, Spain and Ukraine. Samples of the investigated sparkling wines were subjected to a preliminary degassing procedure on an ultrasonic bath BADELIN SONOREX (Germany). The qualitative and quantitative composition of the monomeric forms of phenolic substances in the objects of the study was determined by the method of high-performance liquid chromatography using the chromatographic system Agilent Technologies (model 1100, USA). Zorbax SB-C18 chromatography column was used to separate polyphenolic substances. Gallic acid, caffeic acid, (+)-D-catechin, quercetin dihydrate (Fluka Chemie AG, Switzerland) and trans-resveratrol, (-)-epicatechin, lilac acid of the firm (Sigma-Aldrich, Switzerland) were used as standards.

The range of variation of antioxidant activity, phenolic compounds, including their monomeric forms in various groups (brut, semi-dry and semisweet) of sparkling white wines has been found.

The highest value of antioxidant activity and content of phenolic substances was noted in the sparkling semisweet Muscat white wine "Zolotaya Balka" (Russia). The lowest content of phenolic substances and, correspondingly, the lowest value of antioxidant activity is observed for "Moet Chandon Imperial Brut" (France). Wines with a high content of oxycinnamic and hydroxybenzoic acids differ and a higher value of antioxidant activity.

It is established that irrespective of wine-producing countries, the same regularity is observed: with the increase in the content of phenolic substances and their monomeric forms, antioxidant activity increases. The correlation dependence between the antioxidant activity index and the mass concentration of phenolic substances and the sum of their monomeric forms was derived by regression analysis.

Keywords: wine, antioxidant activity, phenolic substances; monomeric forms, high-performance liquid chromatography (HPLC); photocolometry; amperometry.

References

1. Valdez L. B., Arnaiz L. S., Bustamante J., Alvarez S., Costa L. E., Boveris A. Free radical chemistry in biological systems, *Biol. Res.*, **33** (2), 65 (2000).
2. Badershneider B., Luthria D., Waterhouse A. L., Winterhalter P. Antioxidants in white wine (cv. Riesling): I. Comparison of different testing methods for antioxidant activity, *Vitis*, **38** (3), 127 (1999).
3. Bodorev M. M., Suchkov V. B., Tyrsin Yu. A. Antioxidant activity of natural dry wines as an indicator of quality, *Scientific Works of the XIII International Scientific and Practical Conference "Strategy for the Development of the Food Industry"*, **12** (2), 25 (2007). (in Russ.)
4. Bodorev M. M., Tikhonov V. P., Tyrsin Yu. A. Antioxidant properties and quality of natural red and white dry wines, *Sat. materials of the VI scientific-practical conference "Technologies and products of healthy nutrition. Functional food products"*, **1**, 145 (2008). (in Russ.)
5. Fuhman B., Volkova N., Soraski A., Aviram M. White wine red wine – like properties: increased extraction of grape skin polyphenols improves the antioxidant capacity of the derived white wine, *J. of Agric. Food Chem.*, **49**, 195 (2001).
6. Renaud S., de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease, *Lancet*, **339**, 1523 (1992).
7. Lapin A. A., Gorbunova E. V., Zelenkov V. N., Gerasimov M. K. *Determination of antioxidant activity of wines by coulometric method*, p. 64 (RANS, Moscow, 2009). (in Russ.)
8. Das D. K., Dudley J. I., Lekli I., Mukherjee S., Das M., Bertelli A. Does white wine qualify for French Paradox? Comparison of the cardioprotective effects of red and white wines and their constituents: resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol, *J. Agric. Food Chem.*, **56** (20), 9362 (2008).
9. Tkachenko M. G., Solovyova L. M., Zaitsev G. P., Grishin Yu. V., Mosolkova V. E., Vinogradov B. A. Phenol composition and antioxidant activity of grape juices and wine materials, *"Magarach" Viticulture and winemaking*, **4**, 29 (2012). (in Russ.)
10. Solovyova L. M., Grishin Yu. V., Zaitsev G. P. Peculiarities of phenolic composition and antioxidant activity of white table wines, *"Magarach" Viticulture and winemaking*, **3**, 38 (2014). (in Russ.)
11. Teissedre P. L., Frankel E. N., Waterhouse A. L., Peleg H. Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines, *J. B. German Sci. Food Agricult.*, **70**, 55 (1996).
12. Stefenon C. A., Colombo M., de Bonesi C. M., Marzarotto V., Vanderlinde R., Salvador M., Henriques J. A. P. Antioxidant activity of sparkling wines produced by Champenoise and Charmat methods, *J. Food Chem.*, **119**, 12 (2010).
13. Stefenon C. A., de Bonesi C. M., Marzarotto V., Barnabe D., Spinelli F. R., Webber V., Vanderlinde R. Phenolic composition and antioxidant activity in sparkling wines: Modulation by the ageing on lees, *J. Food Chem.*, **145**, 292 (2014).
14. Zagayko A. L., Krasilnikova O. A., Kravchenko A. B., Voloshchenko M. V., Ogay Yu. A., Solovyova L. M., Mizin V. I., Bogadelnikov I. V. *Biologically active substances of grapes and health: monograph*, p.404 (Kharkov, 2012). (in Russ.)
15. Kallithraka S., Salacha M. I., Tzourou M. I. Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage, *J. Food Chem.*, **113**, 500 (2009).
16. Avdzba A. M., Ageyeva N. M., Markosova V. A. *Red table wines: biochemistry, technology, enotherapy. Monograph*, p. 192 (FGBNU SKZNISIV, Krasnodar, 2016). (in Russ.)
17. GOST 31730-2012. *Wine production. Acceptance rules and methods of sampling*. p. 12 (Standartinform, Moscow, 2013). (in Russ.)
18. GOST 26671-2014. *Products of processing of fruits and vegetables, canned meat and meat-packing. Preparation of samples for laboratory analysis*, p. 10 (Standartinform, Moscow, 2014). (in Russ.)
19. Aristova N. I. Techniques for the measurement of physical and chemical parameters for the quality control of wine products, *"Magarach": viticulture and winemaking*, **4**, 36 (2014). (in Russ.)
20. GOST 33336-2015. *Wines are sparkling. General specifications*, p. 11 (Standartinform, Moscow, 2015). (in Russ.)
21. GOST R 54037-2010. *Food products. Determination of the content of water-soluble antioxidants by amperometric method in vegetables, fruits, processed products, alcoholic and nonalcoholic beverages*, p. 12 (Standartinform, Moscow, 2011). (in Russ.)

22. Yashin A. Ya., Yashin Ya. I. A new device for determining the antioxidant activity of food products, dietary supplements, herbal medicinal extracts and drinks, *Devices and automation*, **11**, 45 (2004). (*in Russ.*)
23. *GOST P 4.1. 1672-03 Quality control methods Manual and safety of biologically active additives to food*, 184 p. (Federal Center gossanepidemnadzora Russian Ministry of Health, Moscow, 2004).
24. *Collection of basic rules, technological instructions and regulatory materials for the production of wine products. Developed by the All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Non-Alcoholic and Wine-Making Industry of the Russian Academy of Agricultural Sciences*, 05.05.98, p. 242 (Pishchepromizdat, Moscow, 1998). (*in Russ.*)

УДК 544.77

СТАБИЛИЗАЦИЯ И КОАЛЕСЦЕНЦИЯ ГИДРОФОБИЗИРУЮЩИХ ЭМУЛЬСИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИСИЛОКСАНОВОЙ ЖИДКОСТИ

Ищенко А. В., Баскаков П. С., Строкова В. В., Молчанов А. О.

*Белгородский государственный технологический университет им. В. Г. Шухова,
Белгород, Россия*

E-mail: alina.ishchenko.92@mail.ru

В работе изучены дисперсионные свойства эмульгированных полисилоксанов в присутствии неионогенных ПАВ и водорастворимых органических соразтворителей, а также гидрофобных покрытий, полученных на их основе. Описаны результаты исследования влияния концентрации поливинилового спирта, этиленгликоля и триметилпентандиолизобутирата (тексанола) на физико-химические характеристики гидрофобизирующих эмульсий. Установлено, что повышение гидрофобизирующих свойств покрытий, сформированных из полученных эмульсий с 25 % содержанием полисилоксана, достигается путем введения поливинилового спирта в количестве 6–8 % и этиленгликоля 8–10 %.

Ключевые слова: гидрофобизирующая эмульсия, полисилоксан, коалесценты, тексанол, этиленгликоль, ПВС.

ВВЕДЕНИЕ

В среде негативного воздействия атмосферных осадков и промышленных выбросов фасадные материалы подвержены разрушению. В связи с этим актуальной является защита отделочных строительных материалов путем обработки их поверхности полисилоксановыми эмульсиями.

Наиболее известным эмульгатором для приготовления гидрофобизирующей эмульсии является желатин. Однако эмульсии на его основе являются неустойчивыми и недолговечными. В связи с этим актуальным является замена традиционно используемого желатина другими неионогенными ПАВ. Для создания устойчивых эмульсий типа «масло в воде» в настоящее время используется поливиниловый спирт. Однако коалесценция эмульсий полисилоксана на его основе детально не была изучена, в том числе при дополнительном введении водорастворимых органических соразтворителей (коалесцентом). Для проведения исследований были использованы типовые коалесценты, используемые в лакокрасочной промышленности с разной температурой кипения, – этиленгликоль и триметилпентандиолизобутират (тексанол). Для определения физико-химических показателей полисилоксановых эмульсий и гидрофобных свойств покрытий на их основе была проведена оценка влияния на них концентрации ПАВ и коалесцентом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для приготовления водного раствора ПВС использовали бидистиллированную воду и ПВС марки SUNDY PVA 088-05 производства SINOPEC SICHUAN VINYLON WORKS (Китай) различной концентрации – 3, 6, 9, 12 %. При постоянном перемешивании на невысоких оборотах магнитной мешалки в предварительно дегазированную воду постепенно добавляли кристаллы ПВС, после чего растворяли их при температуре до 80 °С в течение 50–60 минут.

Полисилоксановые гидрофобизирующие эмульсии были получены путем высокоскоростного эмульгирования кремнийорганического гидрофобизатора и поливинилового спирта (ПВС) в бидистиллированной воде. В качестве гидрофобизирующего компонента использовали кремнийорганический полимер ГКЖ-94, рабочая концентрация – 25 %. Эмульсии готовили при помощи лабораторного смесителя Silverson L5m-A. В раствор ПВС на скорости перемешивания 5000 об/мин. постепенно добавляли кремнийорганическую жидкость в течение 40–60 с. После чего увеличивали скорость перемешивания до 10000 об/мин. Время перемешивания с момента вливания гидрофобизатора составило 10 мин. В процессе эмульгирования емкость с жидкостью охлаждали льдом и водой. В качестве коалесцента были использованы тексанол (триметилпентандиолизообутират) и этиленгликоль в количестве 1, 5 и 10 % от общей массы раствора (Табл. 1). Пленки дисперсии толщиной 60 мкм наносили при помощи аппликатора на твердую поверхность (стекло) с последующим высушиванием в течение 72 часов при комнатной температуре до полного испарения коалесцента и отверждения композиции.

Таблица 1

Характеристики коалесцентов

Свойства	Значение	
	Тексанол	Этиленгликоль
Химическая формула	$C_{12}H_{24}O_3$	$C_2H_4(OH)_2$
Молярная масса, г/моль;	216,4	62,068
Коэффициент оптического преломления	1,4423	1,4318
Температура воспламенения, °С	120	111
Температура самловоспламенения, °С	393	380
Температура замерзания, °С	–50	– 12,6
Температура кипения, °С	254	197,3
Плотность, г/см ³	0,95	1,11

Степень дисперсности гидрофобизирующей системы была изучена при помощи поляризационного микроскопа ПОЛАМ Р-312. Образец эмульсии помещали на предметное стекло, после чего накрывали его покровным стеклом. Исследовали размер капель гидрофобизатора в системе, а также характер его распределения. Наблюдение проводили при проходящем свете.

Краевой угол смачивания, свободную поверхностную энергию, ее дисперсионную и полярную составляющие определяли при помощи прибора для измерения краевого угла смачивания Kruss DSA 30, используя в качестве тестовых жидкостей дистиллированную воду и дийодометан.

Твердость покрытия измеряли при помощи маятника Кенига на поверхности плотных боросиликатных стекол [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При получении эмульсий методом высокоскоростного диспергирования особо заметно смещение равновесия процессов дезинтегрирования и коагуляции частиц дисперсной фазы. Поскольку высокие скорости сдвига при контактном взаимодействии придают дисперсной фазе энергию для создания новой поверхности, это может приводить как к уменьшению размеров частиц силоксана, так и к удалению адсорбционно-сольватного слоя ПАВ. Ввиду этого экспериментально подобрана оптимальная скорость перемешивания 10000 об/мин. для поливинилового спирта, которая не изменялась в зависимости от концентрации в дисперсионной среде [2].

Уменьшение концентрации ПВС ожидаемо приводит к укрупнению размера частиц силоксана в составе дисперсии, что может быть обусловлено недостатком молекул эмульгатора для создания поверхностного слоя мицелл. В конечном итоге это окажет негативное влияние на распределение силоксанового компонента при нанесении эмульсии на поверхность, не обеспечит постоянства поверхностного натяжения и приведет к неконтролируемому загущению, что может вызывать макрорельеф поверхности. При концентрации ПВС 9 и 12 % частицы отличаются моноразмерностью и однородностью распределения гидрофобизатора в растворе ПВС (рис. 1). В свою очередь, добавление коалесцента – как спиртового, так и эфирного – не оказывает заметного влияния на размер частиц, что также было отмечено другими исследователями [3–5].

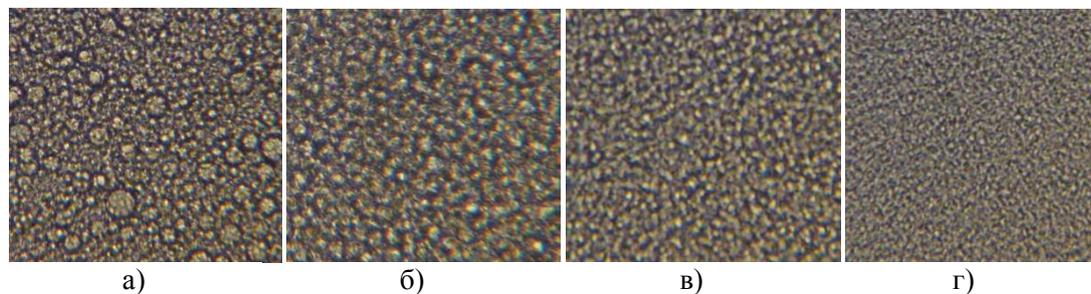


Рис. 1. Микрофотографии эмульсий полисилоксана с различной концентрацией ПВС: а) 3 %; б) 6 %; в) 9 %; г) 12 %

Из полученных полисилоксановых эмульсий были сформированы покрытия, для которых был определен краевой угол в зависимости от концентрации ПВС, вида

и концентрации коалесцента. Отмечено, что при использовании в составе гидрофобизирующей жидкости в качестве коалесцента тексанола максимальный краевой угол смачивания наблюдается при его 1 %-ной концентрации в эмульсии полисилоксана, приготовленной на основе 6 %-го раствора ПВС (Табл. 2).

Таблица 2

Краевой угол смачивания покрытий гидрофобизирующих эмульсий

Конц-я ПВС, %	Конц-я коалесцента, %	Краевой угол смачивания, °			
		Тексанол		Этиленгликоль	
		Вода	Дийодметан	Вода	Дийодметан
3	0	52,80	38,78	60,04	41,11
6	0	59,32	37,92	51,00	38,06
9	0	56,35	37,83	55,84	37,29
12	0	55,92	38,50	57,52	38,80
3	1	57,36	41,40	74,15	44,20
6	1	63,10	40,54	65,11	41,15
9	1	60,13	40,45	69,95	40,37
12	1	59,70	41,13	71,63	41,89
3	5	49,09	48,03	78,45	54,44
6	5	55,61	47,17	69,41	51,39
9	5	52,64	47,08	74,25	50,62
12	5	52,21	47,75	75,93	52,13
3	10	46,72	50,49	96,71	62,50
6	10	53,24	46,73	87,67	59,45
9	10	50,27	46,64	92,51	58,68
12	10	49,84	47,31	94,19	65,31

При увеличении процентного содержания тексанола значения краевого угла смачивания уменьшаются, что также подтверждает нецелесообразность использования тексанола больше 1 % от общего объема (рис. 2а). Тексанол, являясь сложным эфиром спирта, значительно сложнее растворяется в водной среде, чем в полисилоксановой фазе, вызывая в малых концентрациях слабое слипание частиц и последующее плохое испарение из покрытия. Ввиду этого, согласно данным И. А. Толмачева [6–8], при смешивании с гидрофобным ядром частицы, тексанол, с высокой степенью вероятности, может удерживаться в покрытии, увеличивая гидрофильность полисилоксана.

Одним из важнейших условий сохранения гидрофобных свойств является блокирование поверхностно-активных свойств ПВС после формирования пленки покрытия. Это может быть достигнуто за счет перераспределения молекул ПВС на

стадии гелеобразования эмульсии, посредством гидрофобизации дисперсионной среды при добавлении этиленгликоля (рис. 2б). Этиленгликоль проявляет хорошую растворимость в воде, несмотря на то, что его молекула имеет в своем составе гидрофобные фрагменты.

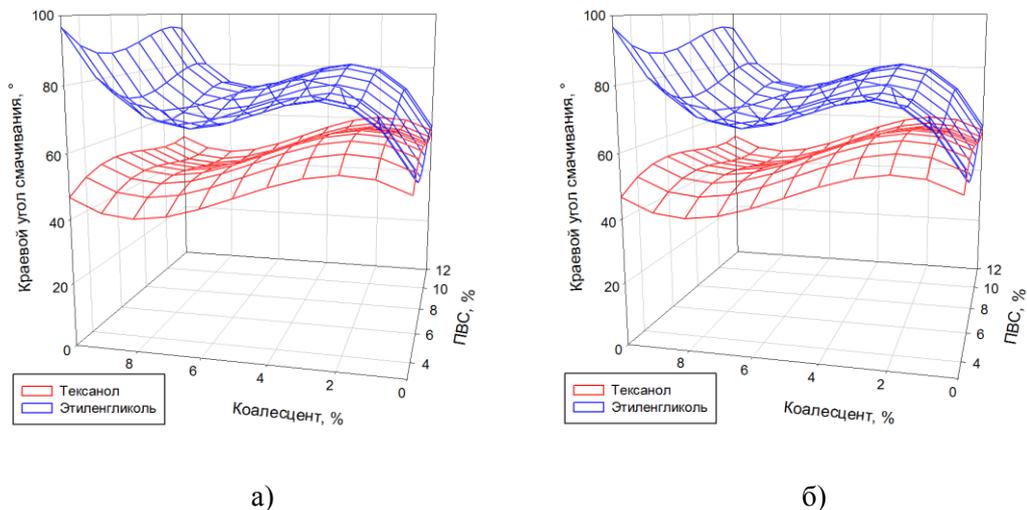


Рис. 2. Краевой угол смачивания гидрофобизирующей эмульсии: а) тестовая жидкость – вода; б) тестовая жидкость – диодметан

Описанное предположение подтверждается тем, что при использовании в качестве коалесцента этиленгликоля наблюдаются более высокие значения краевого угла смачивания по сравнению с тексанолом. Также можно отметить, что увеличение концентрации коалесцента напрямую влияет на повышение влагозащитных свойств покрытия (рис. 3). Максимальными значениями краевого угла смачивания обладают составы с 10 %-ным содержанием этиленгликоля. Показатели свыше 90° указывают на то, что покрытия являются гидрофобными [9, 10]. Это может свидетельствовать о том, что добавление в состав эмульсии этиленгликоля в высоких дозировках ($>8\%$) может создавать дополнительный микрорельеф поверхности, придающий покрытиям слабовыраженную видимую матовость. Такая текстура покрытия может быть в некотором роде иерархической, что является неотъемлемым условием при создании самоочищающихся материалов с супергидрофобными характеристиками [11].

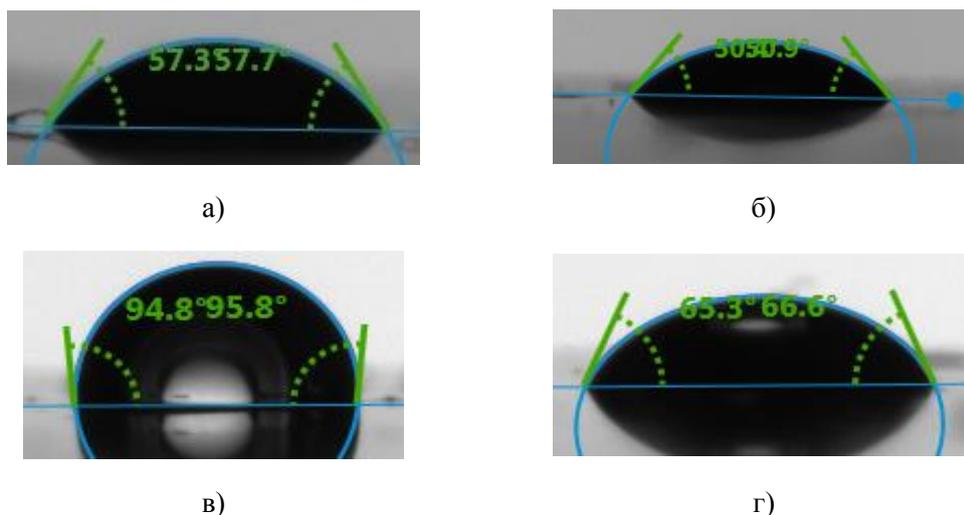


Рис. 3. Наибольшие показатели краевых углов смачивания: а) 1 % ТКС + 3 % ПВС (тест. жидкость – вода); б) 10 % ТКС + 3 % ПВС (тест. жидкость – диодметан); в) 10 % ЭГ + 12 % ПВС (тест. жидкость – вода); г) 10 % ЭГ + 12 % ПВС (тест. жидкость – диодметан)

Отметим, что при проведении измерений при помощи диодметана наблюдаются более высокие показатели краевого угла смачивания покрытия сформированного с помощью этиленгликоля, чем при добавлении тексанола. Это также указывает на целесообразность его использования для придания защитно-декоративных характеристик материалам, а в частности для защиты от воздействия органических загрязнителей, например граффити.

Высокие значения свободной энергии указывают на значительные сдвиговые усилия при приготовлении (диспергировании) эмульсии. Имея избыток свободной энергии, накопившейся на границе раздела фаз, система стремится его уменьшить за счет слипания более мелких частиц в более крупные, т. е. посредством процесса коагуляции. Отсюда же можно вынести следствие: если дисперсия при формировании покрытия сохраняет высокую поверхностную энергию, следовательно, она обладает высокой агрегативной устойчивостью и плохой слипаемостью частиц (коалесценцией) [12].

Увеличение концентрации ПВС во всех случаях приводит к увеличению поверхностной энергии за счет уменьшения размера частиц. Размерность частиц, формируемых покрытие, сохраняется вплоть до 10 % добавления коалесцента. Однако стоит отметить, что при высоких концентрациях тексанола свободная энергия поверхности при увеличении концентрации ПВС растет незначительно, что может быть объяснено слабой адсорбцией ПВС на дисперсионную фазу, представленную смесью тексанола и полисилоксана (табл. 3, рис. 4, 5а).

При использовании этиленгликоля характер роста поверхностной энергии при увеличении концентрации ПВС сохраняется при всех дозировках. Добавление этиленгликоля, растворимого в дисперсионной среде, снижает межфазное натяжение и улучшает слипаемость частиц практически в прямо пропорциональной зависимости от количества введения. В результате образуется ровное сплошное покрытие с растворенными частицами эмульсии.

Таблица 3

Свободная поверхностная энергия покрытий гидрофобизирующих эмульсий

Конц-я ПВС, %	Концентрация коалесцента, %	Свободная поверхностная энергия, мДж/м ²	
		Тексанол	Этиленгликоль
3	0	47,48	44,02
6	0	48,09	50,16
9	0	50,86	52,28
12	0	50,93	50,91
3	1	48,93	39,43
6	1	49,54	45,57
9	1	52,31	47,70
12	1	52,39	46,32
3	5	52,72	33,19
6	5	53,32	39,33
9	5	56,10	41,45
12	5	56,17	40,08
3	10	53,82	24,84
6	10	54,43	30,98
9	10	57,20	33,10
12	10	57,27	31,73

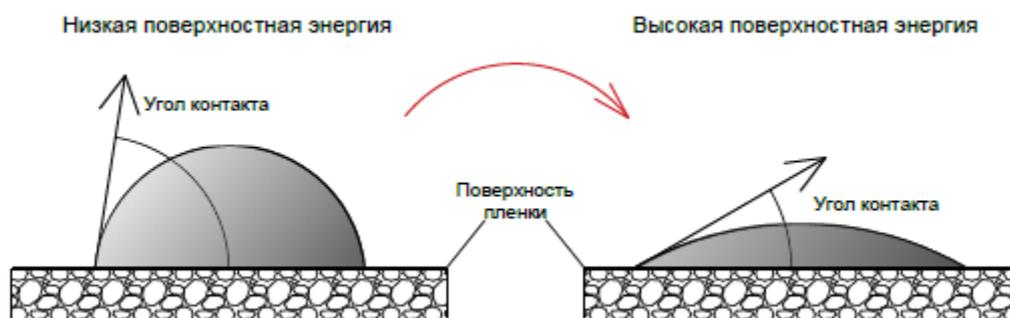


Рис. 4. Влияние значения поверхностной энергии на смачиваемость поверхности

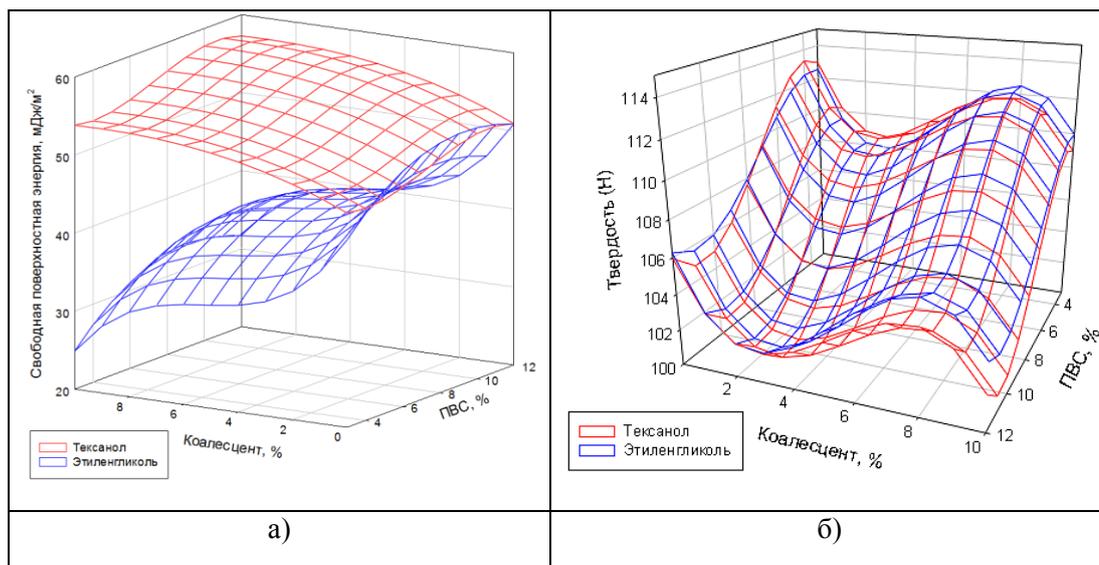


Рис. 5. Показатели поверхностных свойств покрытий: а) свободная поверхностная энергия; б) твердость покрытий

Показатели твердости незначительно уменьшаются в небольших концентрациях (1–4 %) обоих коалесцентов (табл. 4). Это подтверждает тот факт, что тексанол и этиленгликоль оказывают общее пластифицирующее действие на эмульсию, тем самым размягчая готовое покрытие.

В то же время при дальнейшем увеличении концентраций коалесцентов наблюдается неоднозначное их воздействие на показатели твердости. Тексанол, как уже было отмечено, ввиду плохого испарения при твердении, умягчает покрытие в концентрациях более 5 % (рис. 5б). В результате такого падения твердости могут снижаться и остальные физико-механические характеристики, такие, как устойчивость к истиранию, стойкость к блокированию и т. д. Повышение твердости при увеличении концентрации этиленгликоля объясняется перераспределением ПВС с поверхности покрытия в глубинные слои, что также подтверждается повышением его гидрофобных свойств, отмеченным ранее.

Таблица 4

Твердость покрытий гидрофобизирующих эмульсий

Конц-я ПВС, %	Конц-я коалесцента, %	Твердость	
		Тексанол	Этиленгликоль
1	2	3	4
3	0	113	113
6	0	113	113
9	0	106	106

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4
12	0	105	105
3	1	109	111
6	1	109	107
9	1	104	104
12	1	103	102
3	5	111	111
6	5	106	109
9	5	102	104
12	5	105	103
3	10	108	107
6	10	108	106
9	10	103	105
12	10	102	107

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Для создания гидрофобизирующих эмульсий с 25 % содержанием полисилоксана по показателям гидрофобности и твердости покрытия наиболее эффективен этиленгликоль по сравнению с тексанолом ввиду его низкой степени удерживаемости в покрытии.
2. Введение поливинилового спирта в количестве 6–8 % и этиленгликоля 8–10 % позволяет достичь наибольших краевых углов смачивания с водой ($>90^\circ$), не оказывая при этом значительного влияния на твердость и матовость покрытия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента для научных школ НШ-2724.2018.8 и в рамках реализации Программы развития опорного университета на базе БГТУ им. В. Г. Шухова.

Список литературы

1. ГОСТ 5233-89. Материалы лакокрасочные. Метод определения твердости по маятниковому прибору. – М.: Изд-во стандартов – 1989. – 8 с.
2. Кожухова М. И. Особенности гидрофобизации мелкозернистых бетонных поверхностей / М. И. Кожухова, В. В. Строкова, К. С. Соболев // Вестник Белгородского государственного технологического университета им. В. Г. Шухова. – 2014. – № 4. – С. 33–35.
3. О растворной системе поливиниловый спирт – вода / С. В. Алексеева, А. И. Федотова, В. В. Ильина, О. Э. Бабкин, С. С. Мнацаканов // Актуальные проблемы и достижения в естественных и математических науках: сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. – 2015. – С. 67–72.
4. Ланге К. Р. Поверхностно-активные вещества: синтез, свойства, анализ, применение / К. Р. Ланге [под науч. ред. Л. П. Зайченко] – СПб.: Профессия. – 2004. – 240 с.
5. Розенберг М. Э. Полимеры на основе винилацетата / М. Э. Розенберг. – Л.: Химия. – 1983. – 176 с.
6. Григорьева М. Е. Влияние коалесцентов на противокоррозионные свойства латексных покрытий / М. Е. Григорьева, И. А. Толмачев, В. К. Васильев // Лакокрасочные материалы и их применение. – 2008. – № 8. – С. 19–21.

7. Толмачев И. А. Новые воднодисперсионные краски / И. А. Толмачев, В. В. Верхоланцев / Л.: Химия. – 1979. – 200с.
8. Модификация акриловых дисперсий наноразмерными частицами слоистых силикатов для получения покрытий с повышенными эксплуатационными свойствами / Гордеева Н. В., Толмачев И. А., Машляковский Л. Н., Васильев В. К. // Лакокрасочные материалы и их применение. – 2013. – № 8. – С. 23–27.
9. Купцов Ю. В. Гидрофобизация промышленных лакокрасочных покрытий силанами / Ю. В. Купцов, О. Э. Бабкин, Е. Д. Мыскина // Достижения вузовской науки. – 2012. – № 1. – С. 127–131.
10. Купцов Ю. В. Гибридные силикон-стиролакриловые покрытия / Ю. В. Купцов, О. Э. Бабкин, Е. Д. Мыскина // Новое слово в науке и практике: гипотезы и апробация результатов исследований. – 2012. – № 1. – С. 122–126.
11. Кожухова М. И. Микроструктурные особенности формирования иерархической структуры на гидрофобизированной поверхности бетона / М. И. Кожухова, А. В. Кнотько, К. Г. Соболев, Н. И. Кожухова // Вестник Белгородского государственного технологического университета им. В. Г. Шухова. – 2016. – № 9. – С. 6–9.
12. Ким Н. М. Поверхностные явления и дисперсные системы. Коллоидная химия Учебное пособие. / Н. М. Ким. – Кемерово: КузГТУ. – 2005. – 84 с.

STABILIZATION AND COALESCENCE OF HYDROPHOBIZING EMULSIONS BASED ON POLYSILOXANE LIQUID

Ishchenko A. V., Baskakov P. S., Strokov V. V., Molchanov A. O.

*Belgorod State Technological University named after V.G. Shukhov, Belgorod, Russia
E-mail: alina.ishchenko.92@mail.ru*

The dispersion properties of emulsified polysiloxanes in the presence of nonionic surfactants and organic cosolvents, as well as hydrophobic coatings obtained on their basis, are studied in this research. For that purpose hydrophobizing emulsions with 25 % polysiloxane content and various concentrations of PVA (3, 6, 9, 12 %) were prepared. Ethyleneglycol and trimethylpentanediolisobutyrate (texanol) in the amount of 1, 5, 10 % of the total mass were used as coalescents.

When estimating the mono-dimension, it was noted that the most homogeneous system was obtained at a concentration of PVA of 9 and 12 %. A decrease in the content of nonionic surfactant in the dispersion composition leads to the enlargement of the siloxane particles, that will have a negative effect on its distribution when the emulsion is applied to the surface. In this case, the addition of low-boiling coalescents does not have a noticeable effect on the particle size. Analyzing the parameters of contact angle of wetting it is noted that when using ethylene glycol as coalescent, higher values of contact angles of wetting are observed compared to texanol. The maximum values of the wettability index of the surface were achieved with the addition of ethylene glycol in high dosages (> 8 %), which can be explained by the creation of an additional surface relief, which is necessary to achieve superhydrophobic characteristics of the surface. High values of free energy indicate significant shearing forces when preparing (dispersing) the emulsion. An increase in the concentration of PVA in all cases leads to an increase in surface energy due to a decrease in the particle size, while the dimension of the particles formed by the

coating is maintained up to 10 % of the addition of texanol. The addition of coalescents slightly affects the hardness index.

Thus, in the course of the study it was established that the increase in the hydrophobizing properties of coatings formed from the emulsions obtained with a 25 % polysiloxane content is achieved by introducing polyvinyl alcohol in an amount of 6–8 % and ethylene glycol 8–10 %.

Keywords: hydrophobizing emulsion, polysiloxane, coalescents, texanol, ethylene glycol, PVA.

References

1. State standard 5233–89, *Paint and varnish materials. Method for determining the hardness of a pendulum device*, 8 p. (Publishing house of Standards, Moscow, 1989). (in Russ.)
2. Kozhukhova M. I., Strokova V. V., Sobolev K. S., Features of hydrophobization of fine-grained concrete surfaces, *Bulletin of the Belgorod State Technological University named after V.G. Shukhov*, **4**, 33, (2014). (in Russ.)
3. Alekseeva S. V., Fedotova A. I., Iliina V. V., Babkin O. E., Mnatsakanov S. S., About a solution system polyvinyl alcohol–water, *Actual problems and achievements in natural and mathematical sciences: a collection of scientific papers on the results of an international scientific and practical conference*, 67, (2015). (in Russ.)
4. Lange K. P., *Surface-active substances: synthesis, properties, analysis, application*, 240 p. (Profession, Saint-Petersburg, 2004). (in Russ.)
5. Rosenberg M. E., *Polymers based on vinyl acetate*, 176 p. (Chemistry, Leningrad, 1983). (in Russ.)
6. Grigorieva M. E., Tolmachev I. A., Vasiliev V. K., Effect of coalescents on the anticorrosive properties of latex coatings, *Paint and varnish materials and their application*, **8**, 19 (2008). (in Russ.)
7. Tolmachev I. A., Verkhaltantsev V. V., *New water-dispersion paints*, 200 p. (Chemistry, Leningrad, 1979). (in Russ.)
8. Gordeeva N. V., Tolmachev I. A., Mashlyakovskij L. N., Vasiliev V. K., Modification of acrylic dispersions by nanoscale particles of layered silicates for the production of coatings with improved performance properties, *The Russian Coatings Journal (Lakokrasochnye materialy i ikh primeneniye)*, **8**, 23 (2013). (in Russ.)
9. Kuptsov Yu. V., Babkin O. E., Myskina E. D., Gidrofibization of industrial paint coatings with silanes, *Achievements of university science*, **1**, 127 (2012). (in Russ.)
10. Kuptsov Yu. V., Babkin O. E., Myskina E. D., Hybrid silicone–styrene acrylic coatings, *New word in science and practice: hypotheses and approbation of research results*, **1**, 122 (2012). (in Russ.)
11. Kozhukhova M. I., Knotko A. V., Sobolev K. G., Kozhukhova N. I., Microstructural features of the formation of a hierarchical structure on the hydrophobic concrete surface, *Bulletin of the Belgorod State Technological University named after V. G. Shukhov*, **9**, 6 (2016). (in Russ.)
12. Kim N. M., *Surface phenomena and disperse systems. Colloid Chemistry*, 84 p. (KuzGTU, Kemerovo, 2005). (in Russ.)

УДК 546.185 + 547.787.1

СИНТЕЗ И ПРОГНОЗИРУЕМАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ β -АЛАНИНА

Цикалов В. В., Цикалова В. Н., Баевский М. Ю., Маркина С. И.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: ts_v_v@mail.ru*

Синтезированы метил-3-(диалкиламино)- и метил-3-(алкиламино)пропаноаты. Получение производных β -аланина осуществлялся взаимодействием эквимольных количеств дипропиламина, *N*-метил-*N*-циклогексиламина, 2-метоксиэтиламина и *N,N*-диметоксиэтиламина с метиловым эфиром акриловой кислоты. Для расчета потенциальной биологической активности была использована программа PASSOnline.

Ключевые слова: β -аланин, присоединение, синтез, биологическая активность, PASS.

ВВЕДЕНИЕ

Основа нормального обмена веществ, борьба с гипогликемией, смягчение колебаний уровня глюкозы в крови, создание иммуноглобулинов и антител, улучшение памяти – вот далеко не полный список свойств β -аланина. β -Аланин отсутствует в составе белков, однако представляет собой продукт промежуточного обмена аминокислот и входит в состав некоторых биологически активных соединений. Так, одно из веществ, обнаруживающихся в клетках скелетной мускулатуры, – дипептид карнозин, который образуется в реакции β -аланина с гистидином и катализируется ферментом карнозинсинтазой. Главная функция карнозина (β -аланин-*L*-гистидина) – поддержание кислотного равновесия, а также защита клеток нервной системы. Карнозин защищает клетки от старения и является мощным антиоксидантом. Похожее вещество обнаружено в клетках мускулатуры – это ансерин (β -аланин-*N*-метил-*L*-гистидин). Ансерин поддерживает углеводно-фосфорный и окислительный обмен мышц, кроме того, защищает клетки мышц от изменений, наступающих при старении ткани. Остаток β -аланина входит в состав витамина B5, являющегося структурным компонентом кофермента А. β -Аланин используют для приготовления буферов и синтеза биологически активных пептидов, поэтому синтез новых производных β -аланина является актуальной задачей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спектры ^1H -ЯМР получены на приборе Varian VXR-400, (Институт живых систем Северо-Кавказского федерального университета, г. Ставрополь). Внутренний стандарт – тетраметилсилан, химические сдвиги в δ -шкале. ИК-спектры для жидких образцов сняты на ИК-Фурье-спектрофотометре ФСМ-2202 «Инфраспек».

Для прогноза спектров биологической активности полученных соединений по их структурным формулам был использован веб-ресурс PASSOnline [1], обеспечивающий предсказание более 4 тысяч видов биологической активности, включая около 500 фармакологических эффектов, более 3 тысяч видов механизмов действия, 116 взаимодействий с ферментами метаболизма, со средней точностью выше 95 %. Данный прогноз широко используется для расчета потенциальной биологической активности, например в работах [3, 4].

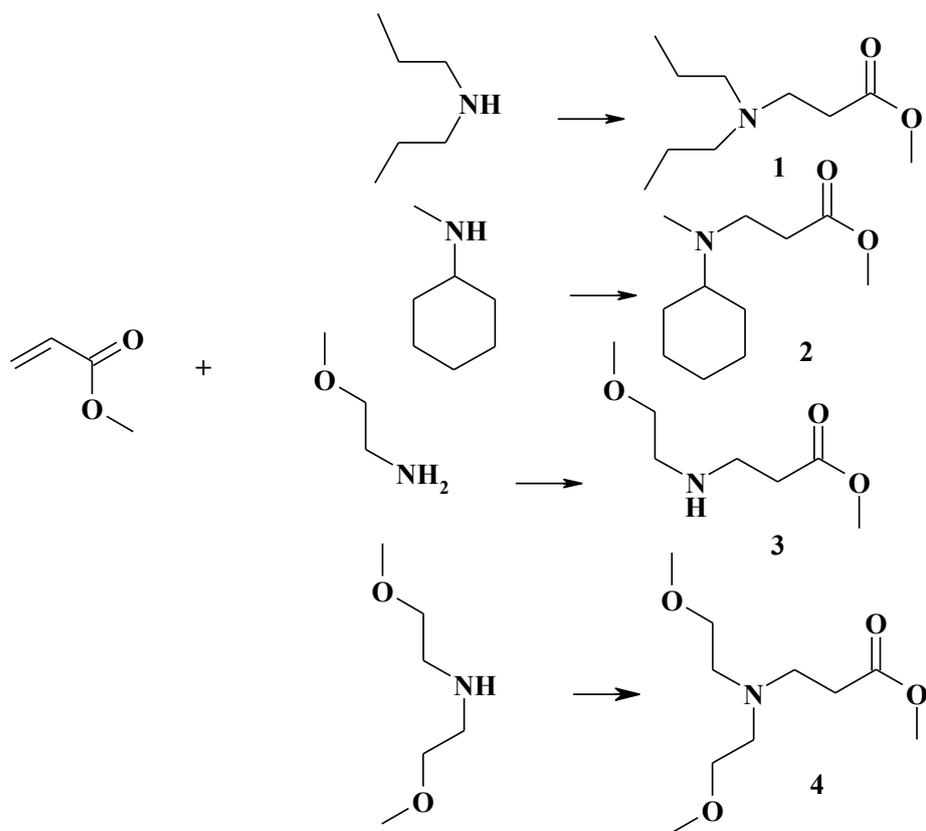


Рис. 1. Схема синтеза производных β -аланина

Синтез метил-3-дипропиламинопропионата (1). В трехгорную круглодонную колбу на 150 мл, снабженную обратным холодильником и термометром, загружали

10,81 г (13,6 мл; 0,1 моля) дипропиламина и 8,69 г (9,14 мл; 0,101 моля) метилового эфира акриловой кислоты. Смесь нагревали до кипения и кипятили 10 часов с обратным холодильником. После охлаждения реакционную смесь перегоняли в вакууме. Выход 68 %; $T_{\text{кип.}}=90-95^{\circ}\text{C}$ при 28 мм рт. ст., $n_{\text{D}}^{20}=1,4254$.

ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 1196 (C–H), 1400 (C–N), 1743 (C=O), 2957 ($\text{Csp}^3\text{-H}$).

Синтез метил-3-(*N*-метил-*N*-циклогексил)аминопропионата (**2**). В трехгорлую круглодонную колбу на 150 мл, снабженную обратным холодильником и термометром, загружали 11,32 г (13,16 мл; 0,1 моля) *N*-метил-*N*-циклогексиламина и 8,69 г (9,14 мл; 0,101 моля) метилового эфира акриловой кислоты. Смесь нагревали до кипения и кипятили 10 часов с обратным холодильником. После охлаждения реакционную смесь перегоняли в вакууме. Выход 63%; $T_{\text{кип.}}=127-132^{\circ}\text{C}$ при 10 мм рт. ст., $n_{\text{D}}^{20}=1,4660$.

ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 1400 (C–N), 1171 (C–H), 3000 ($\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$), 1739 (C=O).

3) Синтез метил-3-(2-метоксиэтил)аминопропионата (3). В трехгорлую круглодонную колбу на 150 мл, снабженную обратным холодильником и термометром, загружали 7,51 г (8,69 мл; 0,1 моля) 2-метоксиэтиламина и 8,69 г (9,14 мл; 0,101 моля) метилового эфира акриловой кислоты. Смесь нагревали до кипения и кипятили 10 часов с обратным холодильником. После охлаждения реакционную смесь перегоняли в вакууме. Выход 62 %; $T_{\text{кип.}}=135^{\circ}\text{C}$, $n_{\text{D}}^{20}=1,4350$.

^1H -ЯМР (DMSO- d_6): 2,42 (2H, т, $-\text{CO}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$); 2,61 (2H, т, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$); 2,72 (2H, т, $-\text{CO}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-$); 3,21 (3H, с, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$); 3,33 (2H, т, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{OCH}_3$); 3,57 (3H, с, $\text{CH}_3-\text{CO}-$).

4) Синтез метил-3-ди(2-метоксиэтил)аминопропионата (4). В трехгорлую круглодонную колбу на 150 мл, снабженную обратным холодильником и термометром, загружали 13,32 г (14,77 мл; 0,1 моля) *N,N*-диметоксиэтиламина и 8,69 г (9,14 мл; 0,101 моля) метилового эфира акриловой кислоты. Смесь нагревали до кипения и кипятили 10 часов с обратным холодильником. После охлаждения реакционную смесь перегоняли в вакууме. Выход 73 %; $T_{\text{кип.}}=170^{\circ}\text{C}$, $n_{\text{D}}^{20}=1,4407$.

^1H -ЯМР (DMSO- d_6): 2,38 (2H, т, $-\text{CO}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$); 2,58 (4H, т, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$); 2,74 (2H, т, $-\text{CO}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-$); 3,21 (6H, с, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_3$); 3,33 (4H, т, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{OCH}_3$); 3,57 (6H, с, $\text{CH}_3-\text{CO}-$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Присоединение метилакрилата к дипропиламину, *N*-метил-*N*-циклогексиламину, 2-метоксиэтиламину и *N,N*-диметоксиэтиламину проводили по методике [5]. Выделение и очистка полученных продуктов осуществлялись вакуумной перегонкой.

Присоединения метилакрилата к диизопропиламину в таких условиях не происходило. Попытки проведения синтеза в течение более длительного времени и с добавкой в качестве кислотного катализатора уксусной кислоты в количестве 0,01 или 0,001 моля также не дали ожидаемого результата.

Структуру полученных производных β-аланина подтверждали с помощью методов ИК- и ¹H-ЯМР-спектроскопии. В ИК-спектре метил-3-дипропиламинопропионата наблюдаются полосы валентных колебаний C–N связи в области 1400 см⁻¹, валентных колебаний простых связей C–H связи в области 2960 см⁻¹, а также колебания валентных колебаний сложных эфиров 1743 см⁻¹.

В ИК-спектре метил-3-(*N*-метил-*N*-циклогексил)аминопропионата наблюдаются полосы поглощения валентных колебаний C–N связи в области 1400 см⁻¹, валентных колебаний алифатических аминов с 1171 до 1199 см⁻¹, валентных колебаний алифатических связей C–H связи в области 2800–3000 см⁻¹, валентных колебаний сложных эфиров в области 1739 см⁻¹.

В ¹H-ЯМР спектре метил-3-(2-метоксиэтил)аминопропионата наблюдаются характеристические сигналы трех протонов метильной группы сложноэфирной группы с химическим сдвигом 3,57 м. д., двух триплетов четырех протонов метиленовых групп пропановой кислоты с химическим сдвигом 2,42 и 2,72 м. д., синглет трех протонов метильной группы метоксиэтильного фрагмента с химическим сдвигом 3,21 м. д. и двух триплетов четырех протонов метиленовых групп метоксиэтильного фрагмента с химическим сдвигом 2,61 и 3,33 м. д.

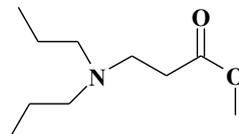
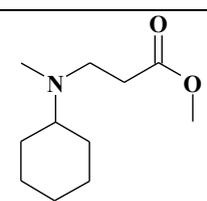
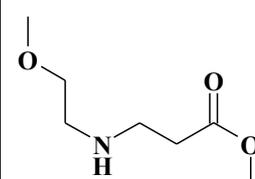
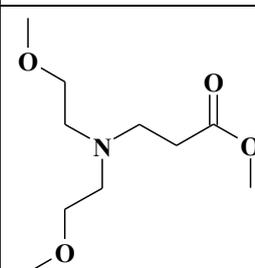
В ¹H-ЯМР спектре метил-3-ди(2-метоксиэтил)аминопропионата наблюдаются характеристические сигналы трех протонов метильной группы сложноэфирной группы с химическим сдвигом 3,57 м. д., двух триплетов четырех протонов метиленовых групп пропановой кислоты с химическим сдвигом 2,38 и 2,74 м. д., синглет шести протонов метильных групп метоксиэтильного фрагмента с химическим сдвигом 3,21 м. д. и двух триплетов восьми протонов метиленовых групп метоксиэтильного фрагмента с химическим сдвигом 2,58 и 3,33 м. д.

Расчетное значение программы PASSOnline для метил-3-дипропиламинопропионата (1) выявило следующие возможные виды активности: «аналептическая» с вероятностью 59 %, «фибринолитическая» с вероятностью 78 %, «лечение фобических расстройств» с вероятностью 89 %, «лечение мукозита» с вероятностью 79 %, «противосеборейное действие» с вероятностью 80 %, «общее анестетическое действие» с вероятностью 68 %.

Для метил-3-(*N*-метил-*N*-циклогексил)аминопропионата (2) расчетное значение программы PASSOnline выявило следующие возможные виды активности – «антиневротическая» с вероятностью 58 %, «ингибитор овуляции» с вероятностью 64 %, «лечение фобических расстройств» с вероятностью 91 %, «лечение мукозита» с вероятностью 56 %, «стимулятор агрегации тромбоцитов» с вероятностью 53 %.

Для метил-3-(2-метоксиэтил)аминопропионата (3) расчетное значение программы PASSOnline выявило следующие возможные виды активности – «антиневротическая» с вероятностью 65 %, «антиангинальная» с вероятностью 59 %, «стимулятор лейкопоза» с вероятностью 60 %, «лечение фобических расстройств» с вероятностью 93 %, «лечение мукозита» с вероятностью 79 %, «лечение предраковых состояний» с вероятностью 70 %, «общее анестетическое действие» с вероятностью 53 %, «регулятор метаболизма липидов» с вероятностью 61 %, периферическое и коронарное сосудорасширяющее действие с вероятностью 68 и 65 % соответственно.

Таблица 2
Оценка биологической активности, рассчитанная по программе PASS Online

Вещество	Pa	Pi	Активность
	0,895	0,006	Phobic disorders treatment
	0,798	0,02	Antiseborrheic
	0,786	0,015	Mucositis treatment
	0,755	0,005	Preneoplastic conditions treatment
	0,680	0,008	Anesthetic general
	0,696	0,024	Fibrinolytic
	0,677	0,008	Platelet aggregation stimulant
	0,616	0,019	Oxygen scavenger
	0,585	0,004	Oxidizing agent
	0,594	0,020	Analeptic
	0,913	0,004	Phobic disorders treatment
	0,643	0,010	Ovulation inhibitor
	0,580	0,079	Antineurotic
	0,558	0,056	Mucositis treatment
	0,515	0,016	Leukopoiesis inhibitor)
	0,533	0,052	Platelet aggregation stimulant
	0,925	0,004	Phobic disorders treatment
	0,794	0,014	Mucositis treatment
	0,699	0,009	Preneoplastic conditions treatment
	0,682	0,011	Vasodilator, peripheral
	0,649	0,010	Vasodilator, coronary
	0,625	0,018	Antianginal
	0,651	0,055	Antineurotic
	0,612	0,020	Lipid metabolism regulator
	0,603	0,018	Leukopoiesis stimulant
	0,597	0,026	Platelet aggregation stimulant
0,529	0,018	Anesthetic general	
	0,915	0,004	Phobic disorders treatment
	0,825	0,014	Antiseborrheic
	0,782	0,005	Anesthetic general
	0,679	0,010	Antihypoxic
	0,684	0,027	Mucositis treatment
	0,703	0,005	Platelet aggregation stimulant
	0,706	0,009	Vasodilator, peripheral
	0,707	0,010	Lipid metabolism regulator
	0,694	0,009	Preneoplastic conditions treatment
	0,653	0,010	Vasodilator, coronary

Для метил-3-ди(2-метоксиэтил)аминопропионата (4) расчетное значение программы PASSOnline выявило следующие возможные виды активности: «антисеборрейная» с вероятностью 83 %, «антигипоксическая» с вероятностью 68 %, «общее анестетическое действие» с вероятностью 78 %, «лечение фобических

расстройств» с вероятностью 92 %, «лечение мукозита» с вероятностью 68 %, «лечение предраковых состояний» с вероятностью 69 %, «регулятор метаболизма липидов» с вероятностью 71 %, периферическое и коронарное сосудорасширяющее действие с вероятностью 71 и 65 % соответственно.

Для метил-3-(2-метоксиэтил)аминопропионата и метил-3-ди(2-метоксиэтил)аминопропионата прогнозируются периферическое и коронарное сосудорасширяющее действие и действие как регуляторов метаболизма липидов. А для метил-3-дипропиламинопропионата и метил-3-ди(2-метоксиэтил)аминопропионата – антисборреинная и антигиопоксическая активность. Для всех полученных соединений прогнозируется высокая вероятность проявления таких свойств, как стимуляция агрегации тромбоцитов и лечение фобических расстройств и мукозита, а также предраковых состояний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Синтезированы и идентифицированы метил-3-дипропиламинопропионат, метил-3-(*N*-метил-*N*-циклогексил)аминопропионат, метил-3-(2-метоксиэтил)аминопропионат и метил-3-ди(2-метоксиэтил)аминопропионат.
2. Проведен прогнозируемый скрининг биологической активности синтезированных соединений с использованием интернет-сервиса PASSOnline.

Список литературы

1. PASSOnline: [Электронный ресурс] // URL: <http://www.way2drug.com/passonline>
2. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASSOnline / Д. А. Филимонов, А. А. Лагунин, Т. А. Глориозова [и др.] // Химия гетероциклических соединений – 2014. – № 3. – С. 483–499.
3. Иванова Е. В. Моно- и бициклические анионные σ -аддукты производных 3,5-динитропиридина в синтезе полифункциональных насыщенных гетероциклических соединений: дисс. ... канд. хим. наук: 02.00.03 / Иванова Евгения Владимировна. – Тула, 2014. – 222 с.
4. Дружиловский Д. С. Поиск и оптимизация свойств новых ингибиторов интегразы вич-1 на основе компьютерного прогноза: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.01.09 / Дружиловский Дмитрий Сергеевич. – М., 2013. – 22 с.
5. Органикум. В 2-х т. Пер. с нем. 4-е изд./ Г. Беккер [и др.]. – Т. 2. – М.: Мир, 2008. – С. 197.

SYNTHESIS AND FORECASTING BIOLOGICAL ACTIVITY DERIVATIVES OF β -ALANINE

Tsikalov V. V., Tsikalova V. N., Baevsky M. Y., Markina S. I.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: ts_v_y@mail.ru*

β -Alanine derivatives were synthesized and identified. β -Alanine is necessary for normal metabolism, hypoglycemia, for mitigation of blood glucose levels fluctuations, the immunoglobulins and antibodies formation, memory improvement. The residue of

β -alanine is a part of biologically active substances (vitamin B5, carnosine and anserine), and β -alanine is used to form buffers and synthesis of biologically active peptides. Carnosine protects our cells from aging and is a powerful antioxidant. Anserin supports the carbohydrate-phosphorus metabolism, and oxidative muscle, also protects the muscle cells from the changes associated with aging tissue. The accession of methyl acrylate to dipropylamine, *N*-methyl-*N*-cyclohexylamine, 2-methoxyethylamine and *N,N*-dimethoxyethylamine carried out by boiling them in equimolar amounts in 10 hours. Cleaning of the formed products was carried out by vacuum distillation. The structure of the obtained compounds was confirmed by IR- and ¹H-NMR spectroscopy. The predicted screening of biological activity of synthesized compounds using the Internet service PASSOnline was carried out. For methyl-3-(2-methoxyethyl)aminopropionate and methyl-3-di(2-methoxyethyl)aminopropionate, the peripheral and coronary vasodilator action and the action as lipid metabolism regulators are predicted. And for methyl-3-dipropylaminopropionate and methyl-3-di(2-methoxyethyl)aminopropionate antiseborrhea and antihypoxic activity. Stimulation of platelet aggregation and use in the treatment of phobic disorders and mucositis, as well as preneoplastic conditions, revealed for all the compounds.

Keywords: β -alanine, addition, synthesis, biological activity, PASS.

References

1. www.way2drug.com/passonline
2. Filimonov D. A., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Rudyk A. V., Druzhilovsky D. S., Pogodin P. V., Poroikov V. V. Prediction of spectra of biological activity of organic compounds with the help of the PASSOnline web resource, *Chemistry of heterocyclic compounds*, **3**, 483 (2014). (*in Russ.*)
3. Ivanova E. V. (2014) *Mono- and bicyclic anionic σ -adducts of 3,5-dinitropyridine derivatives in the synthesis of polyfunctional saturated heterocyclic compounds* (PhD Thesis), Tula: Tula State Pedagogical University behalf of L. N. Tolstoy (*in Russ.*)
4. Druzhilovsky D. S. (2013) *Search and optimization of the properties of new inhibitors of integrase vich-1 on the basis of computer prediction* (PhD Thesis), Moscow: Federal State Budgetary Institution "Research Institute of Biomedical Chemistry named after VN Orekhovich" of the Russian Academy of Medical Sciences (FGBU "IBMH" RAMS) (*in Russ.*)
5. Becker H., Beckert R., Berger W., Gewalt K., Gentz F. (eds.) (2008). *Organicum*, Moscow: Mir. (*in Russ.*)

УДК 539.194

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ВНУТРЕННЕГО ВРАЩЕНИЯ В МОЛЕКУЛЕ АЗОТНОЙ КИСЛОТЫ

Шейх-Заде М.-И.

*ГБОУВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: tospcrimea@gmail.com*

Рассчитан приведенный момент инерции $I_{пр}$ молекулы азотной кислоты с привлечением геометрических параметров этой молекулы. С использованием модели полужесткой молекулы, значения $I_{пр}$ и частоты $\tau(\text{OH})$ торсионного перехода $0 \rightarrow 1$ рассчитана потенциальная функция внутреннего вращения $V(\alpha) = 0,5 \cdot V_2 \cdot (1 - \cos 2\alpha)$ молекулы азотной кислоты из решения уравнения Матъе и из решения одномерного уравнения Шредингера для внутреннего вращения с применением квантово-механической теории возмущений.

Ключевые слова: азотная кислота, внутреннее вращение, потенциальная функция.

ВВЕДЕНИЕ

Поворот одной части молекулы относительно другой части вокруг химической связи между ними в большинстве случаев сопровождается изменением потенциальной энергии молекулы. Зависимость потенциальной энергии молекулы от угла α поворота одной части молекулы относительно другой можно описать некоторой функцией $V(\alpha)$, которую обычно называют потенциальной функцией внутреннего вращения (ПФВВ). Значение ПФВВ позволяет получить данные об устойчивости конформеров молекул, об энергии внутримолекулярной водородной связи, о влиянии электронных эффектов заместителей на параметры ПФВВ, о влиянии внутреннего вращения на дипольные моменты молекул и тому подобное [1].

Существуют различные методы нахождения ПФВВ. В настоящей работе для этой цели использованы данные ИК-спектроскопии. В качестве объекта изучения выбрана азотная кислота, молекулу которой можно рассматривать как плоский волчок (ОН-группа), соединенный с плоским остовом (NO₂-группа). Молекула в целом является плоской [2].

Целью данной работы являлось установление вида ПФВВ в молекулах азотной кислоты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение ПФВВ проводилось двумя методами: с использованием решения уравнения Матъе и решения одномерного уравнения Шредингера для внутреннего

вращения с применением теории возмущений. Для расчета приведенного момента инерции $I_{пр}$ использовались геометрические параметры молекул азотной кислоты, полученные в [2, 3] микроволновым методом. Геометрия молекул азотной кислоты приведена также в [4]. Значение частоты $\tau(\text{OH})$ торсионного перехода $0 \rightarrow 1$ в молекулах азотной кислоты было получено в [5, 6] методом ИК-спектроскопии. Для расчетов использованы данные работы [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Если к молекулам азотной кислоты применить модель полужесткой молекулы, когда молекула состоит из жесткого волчка, совершающего заторможенное внутреннее вращение (торсионные колебания) относительно жесткого остова, то ПФВВ $V(\alpha)$ будет только функцией угла α и одномерное волновое уравнение Шредингера для внутреннего вращения будет иметь вид:

$$F \cdot \frac{d^2 \psi(\alpha)}{d\alpha^2} + [E - V(\alpha)] \cdot \psi(\alpha) = 0, \quad (1)$$

где $F = \hbar^2 / (2 \cdot I_{пр})$, E – полная энергия торсионных колебаний. В уравнении (1) предполагается, что $I_{пр}$ не зависит от α . Значение $I_{пр}$ было рассчитано по формулам, приведенным в [7], с использованием геометрии молекул азотной кислоты из работы [3] и оказалось равным $0,8108 \text{ аем} \cdot (\text{Å})^2$. При последующих расчетах предполагалось также, что торсионные колебания не взаимодействуют с другими колебаниями и что значения F одинаковы для торсионных уровней с $\nu=0$ и $\nu=1$, где ν – торсионное квантовое число.

$V(\alpha)$ является периодической функцией угла α , поэтому $V(\alpha)$ можно представить в виде ряда Фурье. Если потребовать, чтобы выполнялось условие $V(0)=0$, т. е. начало отсчета α вести от минимума кривой $V(\alpha)$ и учесть, что остов (NO_2 -группа) обладает осью симметрии второго порядка C_2 , то $V(\alpha)$ можно представить в виде:

$$V(\alpha) = \sum_{k=1}^{\infty} \frac{1}{2} \cdot V_{2k} \cdot (1 - \cos 2k\alpha). \quad (2)$$

Обычно удается получить только частоту $\tau(\text{OH})$ торсионного колебания, соответствующего переходу $\nu=0 \rightarrow \nu=1$. Поэтому в (2) удастся определить только первый член, т. е. в этом случае $V(\alpha)$ имеет вид:

$$V(\alpha) = \frac{1}{2} \cdot V_2 \cdot (1 - \cos 2\alpha). \quad (3)$$

Подстановкой $2x = 2\alpha + \pi$, $b = \frac{E}{F}$, $s = \frac{V_2}{F}$ уравнение (1) с ПФВВ (3) можно привести к уравнению Матье

$$\frac{d^2 y(x)}{dx^2} + (b - s \cdot \cos^2 x) \cdot y(x) = 0,$$

решения которого известны и табулированы, например в [8]. С использованием значения частоты $\tau(\text{OH})$ торсионного перехода $0 \rightarrow 1$ из [5] и таблицы [8] было рассчитано значение V_2 , которое оказалось равным 2743 см^{-1} . По этим данным

получена ПФВВ в молекулах азотной кислоты, график которой приведен на рис. 1. На этом рисунке показаны также рассчитанные значения торсионных уравнений энергии $E_0=233,4 \text{ см}^{-1}$, $E_1=689,2 \text{ см}^{-1}$.

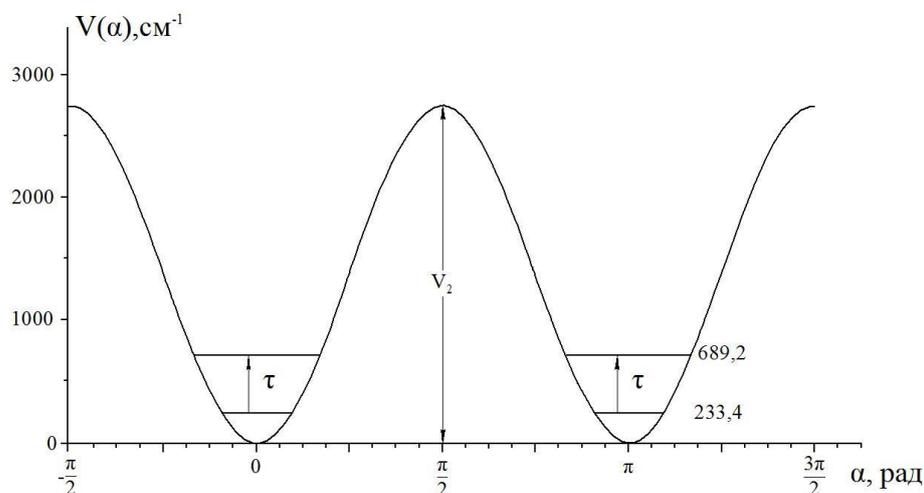


Рис. 1. Потенциальная функция внутреннего вращения в молекулах азотной кислоты

Значение V_2 при относительно высоких барьерах внутреннего вращения можно получить и другим методом. Уравнение (1) с ПФВВ (3) можно привести к виду:

$$\frac{d^2\psi(\alpha)}{d\alpha^2} + (b - s \cdot \sin^2 \alpha) \cdot \psi(\alpha) = 0.$$

Разложим $\sin^2\alpha$ в ряд по α и сохраним в разложении члены до α^6 включительно. Тогда получим:

$$\frac{d^2\psi(\alpha)}{d\alpha^2} + [b - s \cdot (\alpha^2 - \frac{\alpha^4}{3} + \frac{2\alpha^6}{45})] \cdot \psi(\alpha) = 0. \quad (4)$$

Уравнение (4) можно решить, применив квантовомеханическую теорию возмущений. Тогда с учетом второго порядка теории возмущений для α^4 и первого порядка для α^6 получаются формулы для торсионных уровней энергии, приведенные в [9]. Используя эти формулы и значения $\tau(\text{OH})$ и F , можно определить значение V_2 . Полученное таким методом значение V_2 для молекул азотной кислоты оказалось равным 2742 см^{-1} , что совпадает со значением V_2 , найденным из решения уравнения Матье.

Полученное значение для V_2 несколько отличается от значения $V_2=2432 \text{ см}^{-1}$, найденного в [6] для азотной кислоты, но близко к значению $V_2=2618 \text{ см}^{-1}$ для дейтерированной по гидроксилу азотной кислоты [6]. Меньшее значение V_2 в $\text{O}_2\text{N-OH}$ по сравнению с $\text{O}_2\text{N-OD}$ авторы работы [6] объясняют бóльшим взаимодействием $\tau(\text{OH})$ с другими колебаниями в молекуле $\text{O}_2\text{N-OH}$. По-видимому, этим же можно объяснить меньшее значение V_2 для $\text{O}_2\text{N-OH}$ в [6] по сравнению со

значением V_2 в данной работе, если учесть те исходные допущения, которые были приняты для расчетной модели молекулы. Другой возможной причиной отличия значения V_2 в данной работе и в [6] может быть использование иной методики определения V_2 в [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Рассчитан приведенный момент инерции $I_{пр}$ молекул азотной кислоты.
2. С использованием значения $I_{пр}$ и частоты $\tau(\text{OH})$ торсионного перехода $0 \rightarrow 1$ определена ПФВВ в молекулах азотной кислоты.

Список литературы

1. Внутреннее вращение молекул / Под ред. В. Дж. Орвилл-Томаса. – М.: Мир, 1977. – 510 с.
2. Cox A. P. Microwave spectrum and structure of nitric acid / A. P. Cox, J. M. Riveros // J. Chem. Phys. – 1965. – Vol. 42, № 9. – P. 3106–3112.
3. Millen D. The microwave spectrum of nitric acid / D. Millen, J. R. Morton / J. Chem. Soc. – 1960. – Apr. – P. 1523–1528.
4. Гиллеспи Р. Геометрия молекул. / Гиллеспи Р. – М.: Мир, 1975. – С. 137.
5. Mc Graw G. E. Vibrational spectra of isotopic nitric acid / G. E. Mc Graw, D. L. Bernitt, I. C. Hisatsune // J. Chem. Phys. – 1965. – Vol. 42, № 1. – P. 237–244.
6. Veken B. J. van der. Internal rotation in nitric acid / B. J. van der Veken, G. H. Pieters, M. A. Herman [et al.] // J. Mol. Struct. – 1982. – Vol.80. – P.467–470.
7. Марголин Л. Н. Вычисление приведенных моментов инерции для внутреннего вращения в симметричных молекулах / Л. Н. Марголин, Ю. А. Пентин, В. И. Тюлин // Опт и спектр. – 1973. – Т. 35, № 5. – С. 824–827.
8. Ince E. L. Tables of elliptic cylinder functions / E. L. Ince // Proc. Roy. Soc., Edinburg. – 1932. – Vol. 52, № 4. – P. 355–423.
9. Canliffe A. V. Analysis of infrared torsional data / A. V. Canliffe // J. Mol. Struct. – 1970. – Vol. 6, № 1. – P. 9–22.

POTENTIAL FUNCTION OF INTERNAL ROTATION IN NITRIC ACID MOLECULE

Sheikh-Zade M.-I.

*Crimean Engineering and Pedagogical University, Simferopol, Russia
E-mail: tospcrimea@gmail.com*

The reduced moment of inertia I_r of nitric acid molecule with the geometrical parameters of these molecule is calculated. During the calculating the potential function of internal rotation a model of a semirigid molecule where the rigid top rotates relative to the rigid core was used. It was also assumed that torsional vibrations do not interact with other vibrations and that the values $F = \hbar^2 / (2 \cdot I_r)$ are the same for torsion levels with $v=0$ and $v=1$, where v is the torsional quantum number. Using the values of the reduced moment of inertia I_r and the torsional transition frequency $0 \rightarrow 1$, the potential function of internal rotation $V(\alpha) = 0,5 \cdot V_2 \cdot (1 - \cos 2\alpha)$ of nitric acid molecules was calculated by two methods: using the solution of the Mathieu equation and using the solution of the one-dimensional

Schrödinger equation for internal rotation using quantum-mechanical perturbation theory. Both methods lead to the same value for V_2 .

Keywords: nitric acid, internal rotation, potential function.

References

1. Internal rotation in molecules, Ed. by Orville-Thomas W. J., 510 p. (Mir, Moscow, 1977). (*in Russ.*)
2. Cox A. P., Riveros J. M., Microwave spectrum and structure of nitric acid, *J. Chem. Phys.*, **42**(9), 3106 (1965).
3. Millen D., Morton J. R., The microwave spectrum of nitric acid, *J. Chem. Soc. Apr.*, 1523 (1960).
4. Gillespie R. J., Molecular geometry, p.137. (Mir, Moscow, 1975). (*in Russ.*)
5. Mc Graw G. E., Bernitt D. L., Hisatsune I. C., Vibrational spectra of isotopic nitric acid, *J. Chem. Phys.*, **42**(1), 237(1965).
6. Veken B. J. van der., Pieters G. H., Herman M. A., Durig J. R., Internal rotation in nitric acid, *J. Mol. Struct.*, **80**, 467 (1982).
7. Margilin L. N., Pentin Yu. A., Tyulin V. I., Calculation of reduced inertia moments for internal rotation in symmetric molecules, *Opt. and Spectr.*, **35**(5), 824 (1973). (*in Russ.*)
8. Ince E. L., Tables of elliptic cylinder functions, *Proc. Roy. Soc., Edinburg.*, **52**(4), 355 (1932).
9. Canliffe A. V., Analysis of infrared torsional data, *J. Mol. Struct.*, **6**(1), 9 (1970).

УДК 547.918:543.42

СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ГЛАВНЫХ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ПЛЮЩА

Яковишин Л. А.¹, Гришкова В. И.²

¹*ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», Севастополь, Россия*

²*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия*
E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Предложен способ выделения главных тритерпеновых гликозидов плюща α -хедерина (3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозид хедерагенина) и хедерасопонина С (3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→4)-*O*- β -*D*-глюкопиранозил-(1→6)-*O*- β -*D*-глюкопиранозид хедерагенина), включающий экстракцию растительного сырья 70 % водным изопропиловым спиртом с последующим разделением и очисткой выделенных веществ колоночной хроматографией на силикагеле. Строение изолированных гликозидов подтверждено химическими методами, а также ИК-, масс- и ЯМР-спектроскопией.

Ключевые слова: тритерпеновые гликозиды, α -хедерин, хедерасопонин С, плющ, хроматография, ИК-Фурье-спектроскопия, масс-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия.

ВВЕДЕНИЕ

Тритерпеновые гликозиды – это низкомолекулярные биорегуляторы, проявляющие широкий спектр биологической активности [1]. Они являются действующими веществами ряда лекарственных растений и препаратов, разработанных на их основе [1, 2]. Плющ обыкновенный *Hedera helix* L. (Araliaceae Juss.), издавна применяемый для лечения кашля [1, 2], содержит ряд тритерпеновых гликозидов олеананового типа.

Терапевтический эффект препаратов плюща обыкновенного объясняется наличием тритерпеновых гликозидов [1, 3, 4]. Среди них основным действующим веществом является α -хедерин (α -гедерин, сапиндозид А, калопанакс-сапонин А, 3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозид хедерагенина, гликозид **1**; рис. 1) [3, 4]. Гликозид **1** стимулирует β_2 -адренорецепторы в клетках эпителия легких и мышц бронхов. В плюще преобладает пролекарственная форма гликозида **1** – хедерасопонин С (гедерасопонин С, хедеракозид С, гедеракозид С, 3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→4)-*O*- β -*D*-глюкопиранозил-(1→6)-*O*- β -*D*-глюкопиранозид хедерагенина, гликозид **2**; рис. 1) [1], при гидролизе которого образуется гликозид **1**.

На основе листьев плюща обыкновенного разработано несколько лекарственных препаратов [2, 5]. Это монокомпонентные препараты проспан (Германия) [1, 2, 5], геделикс (Германия) [2, 5], гербион сироп плюща (Словения) [6,

7], а также комбинированные препараты бронхипрет (Германия) [2, 5] и бронхиал плюс с плющом, мальвой и витамином С (Чешская Республика) [5]. Недавно арсенал лекарственных средств на основе плюща пополнился монокомпонентными препаратами гедерин [5, 8] и пектолван плющ [9, 10] (Украина), а также средством гедехил [11] (Беларусь). В России и странах СНГ препараты на основе листьев плюща являются одними из наиболее популярных средств для лечения кашля [12].

В медицинской практике также используют комбинированное гомеопатическое средство галиум-хеель (Германия), содержащее экстракт *Hedera helix*. Оно показано для активации неспецифических защитных механизмов организма, в частности при хронических заболеваниях [5]. В Грузии применяют бронхоспазмолитик кавсурон на основе плюща кавказского [13].

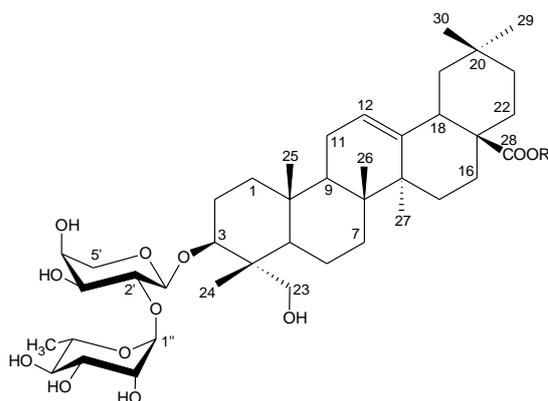


Рис. 1. Строение главных тритерпеновых гликозидов плюща (α -хедерина (гликозида **1**: R = H) и хедерасапонина С (гликозида **2**: R = $\leftarrow\beta\text{Glc}p-(6\leftarrow 1)-\beta\text{Glc}p-(4\leftarrow 1)-\alpha\text{Rhap}$)

Недавно в России разработан фитокомплекс хедерикс+, содержащий экстракты листьев плюща обыкновенного, листьев мать-и-мачехи обыкновенной *Tussilago farfara* L. (Asteraceae Bercht. & J. Presl) и травы тимьяна ползучего (чабреца) *Thymus serpyllum* L. (Lamiaceae Lindl.) [14, 15]. Хедерикс+ рекомендован в качестве отхаркивающего средства в комплексной терапии воспалительных заболеваний дыхательных путей.

Тритерпеновые гликозиды из растительного сырья традиционно экстрагируют спиртами, водой или их смесями [1]. При этом чистые спирты недостаточно экстрагируют высокополярные, а вода – малополярные гликозиды. Гликозиды из плюща обычно извлекают метанолом, этанолом или их водными растворами [16–22]. Однако в метаноле может происходить их трансформация [1].

С целью получения тритерпеновых гликозидов **1** и **2** нами предложен перспективный способ их выделения из листьев различных видов плюща.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Листья плюща крымского *Hedera taurica* Carr. были собраны в окрестностях г. Севастополя, канарского *Hedera canariensis* Willd. – получены из коллекции Ботанического сада Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН и Донецкого ботанического сада, а обыкновенного *Hedera helix* L. – собраны в окрестностях г. Львова. Растительное сырье высушивали при комнатной температуре (20–22 °С).

Листья плюща канарского, крымского и обыкновенного в количестве по 500 г сухого веса последовательно экстрагировали при 50 °С по 60 мин.: тремя порциями смеси хлороформ – бензол (9:1, по объему) по 5000 мл и пятью порциями 70 % водного 2-пропанола по 5000 мл. Спиртовые экстракты объединяли и далее упаривали.

Полученную сумму тритерпеновых гликозидов разделяли хроматографически на 4000 г силикагеля L при градиентном элюировании системами растворителей хлороформ – этанол (2:1→1:1, по объему), насыщенными водой. Выделенные гликозиды подвергали дополнительной очистке от примесей фенольных соединений хроматографически на силикагеле L при элюировании смесями растворителей хлороформ – этанол (2:1, по объему), насыщенной 10 % водным аммиаком (для гликозида **1**), и хлороформ – этанол (1:1, по объему), насыщенной 10 % водным аммиаком (для гликозида **2**). Чистоту выделенных соединений контролировали с помощью ТСХ.

Таблица 1

Химические сдвиги сигналов атомов ¹³C агликонных частей тритерпеновых гликозидов 1 и 2 (δ, м.д., 0 – ТМС, C₅D₅N)

C-атом	Тритерпеновый гликозид		C-атом	Тритерпеновый гликозид	
	1	2		1	2
1	38.9	38.9	16	23.9	23.5
2	26.2	26.0	17	46.7	47.2
3	82.1	82.1	18	42.1	41.8
4	43.5	43.5	19	46.5	46.3
5	47.3	47.7	20	30.9	30.8
6	18.4	18.3	21	34.4	34.1
7	33.0	32.9	22	33.2	32.6
8	39.8	40.1	23	64.4	64.6
9	48.3	48.3	24	13.8	13.8
10	36.9	37.0	25	16.2	16.3
11	23.8	23.9	26	17.4	17.6
12	122.8	122.9	27	26.2	26.2
13	144.8	144.3	28	180.3	176.6
14	42.2	42.2	29	33.2	33.2
15	28.4	28.4	30	23.9	23.8

В результате получили гликозиды **1** и **2**, выход которых в пересчете на сухое растительное сырье составил, соответственно, для листьев плюща крымского –

1,9 % и 3,5 %, листьев плюща обыкновенного – 1,7 % и 3,9 % и листьев плюща канарского – 2,9 % и 4,9 %. Структуру выделенных гликозидов подтверждали химическими методами (кислотный и щелочной гидролиз) и ТСХ-анализом, как описано в [23, 24].

Полным кислотным гидролизом **1** получены рамноза, арабиноза и хедерагенин. Масс-спектр (ионизация электрораспылением) **1**: $[M^1-H]^-$ (749.463 (100.0 %)), $[M^1+Na]^+$ (773.566 (100.0 %)). По ТСХ, ИК-, масс- и ^{13}C ЯМР-спектру гликозид **1** идентичен 3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозиду хедерагенина [23, 24]. Спектр ЯМР ^{13}C гликозида **1** приведен в таблицах 1 и 2.

В полном кислотном гидролизате **2** идентифицированы рамноза, арабиноза, глюкоза и хедерагенин. Щелочным гидролизом **2** получен прогенин, идентичный гликозиду **1**. Масс-спектр (ионизация электрораспылением) **2**: $[M^2-H]^-$ (1219.642 (100.0 %)), $[M^2+Na]^+$ (1243.765 (100.0 %)). По ТСХ, ИК-, масс- и ^{13}C ЯМР-спектру гликозид **2** идентичен 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*-глюкопиранозилового эфиру хедерагенина [24]. Спектр ЯМР ^{13}C гликозида **2** приведен в таблицах 1 и 2.

Таблица 2

Химические сдвиги сигналов атомов ^{13}C углеводных частей тритерпеновых гликозидов 1 и 2 (δ , м.д., 0 – ТМС, C_5D_5N)

C-атом	Тритерпеновый гликозид			
	1	2	2	2
	Ara'	Ara'	Glc'''	Rha''''
1	104.3	104.3	95.9	102.8
2	75.9	75.9	74.0	72.6
3	74.5	74.5	78.7	72.8
4	69.4	69.4	70.9	74.0
5	65.6	65.6	78.1	70.4
6	–	–	69.3	18.6
	Rha''	Rha''	Glc''''	
1	101.7	101.7	104.9	
2	72.4	72.4	75.4	
3	72.6	72.6	76.5	
4	74.2	74.2	78.4	
5	69.8	69.8	77.2	
6	18.5	18.5	61.4	

ИК-спектры сняты с твердых образцов на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (СИМЕКС, Россия) с универсальной оптической приставкой НПВО (нарушенного

полного внутреннего отражения) с элементом из селенида цинка. Для работы с ИК-спектрометром ФТ-801 использовали программу ZaIR 3.5 (СИМЕКС, Россия).

ИК-спектр гликозида 1 (ν , см^{-1}): 3394 (ОН), 2934 (СН), 1698 (C=O), 1653 (C=C), 1456 (СН), 1386 (СН), 1363 (СН), 1338 (СН), 1304 (СН), 1264 (СН), 1234 (СН), 1206 (СН), 1124 (C–O–C, C–ОН), 1074 (C–O–C, C–ОН), 1050 (C–O–C, C–ОН), 1029 (C–O–C, C–ОН), 984 (=СН).

ИК-спектр гликозида 2 (ν , см^{-1}): 3351 (ОН), 2924 (СН), 1728 (C=O), 1623 (C=C), 1455 (СН), 1386 (СН), 1363 (СН), 1260 (СН), 1231 (СН), 1202 (СН), 1048 (C–O–C, C–ОН), 1027 (C–O–C и C–ОН), 981 (=СН).

Масс-спектры получены на спектрометре Bruker Daltonics micrOTOF-Q с ионизацией электрораспылением. Использовали программное обеспечение micrOTOFcontrol™2.2 [25]. ^{13}C -ЯМР-спектры получены на приборе Bruker WM-250 (62.9 МГц для ^{13}C) (Bruker, Германия) для растворов веществ в пиридине- d_5 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для исключения ферментативного гидролиза гликозидов при измельчении свежесобранного растительного сырья его предварительно высушивали при комнатной температуре, а затем измельчали. Экстракцию проводили при температуре 50 °С, чтобы предотвратить потерю нативности гликозидов.

Растительное сырье последовательно экстрагировали тремя порциями смеси хлороформ – бензол и пятью порциями 70 % водного изопропилового спирта. Использование в качестве экстрагента изопропилового спирта исключает образование артефактов гликозидов. Спирт предложенной концентрации позволяет извлекать из сырья как средне- (гликозид **1**), так и высокополярные (гликозид **2**) тритерпеновые сапонины.

Полученные хлороформно-бензолные экстракты, по данным ТСХ, содержали малополярные вещества, а спиртовые – смесь тритерпеновых гликозидов. Суммы тритерпеновых гликозидов разделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле при градиентном элюировании системами растворителей хлороформ – этанол, насыщенными водой. При этом получили гликозиды **1** и **2**.

Дополнительную очистку тритерпеновых гликозидов от примесей фенольных соединений и других сопутствующих веществ проводили хроматографически на силикагеле при элюировании смесями растворителей хлороформ – этанол, насыщенными водным аммиаком. Чистоту выделенных соединений контролировали с помощью ТСХ.

Структуры выделенных гликозидов **1** и **2** подтверждали химическими методами, а также ЯМР-, масс- и ИК-спектроскопией. Полный кислотный гидролиз гликозида **1** дает рамнозу, арабинозу и хедерагенин. В кислотном гидролизате гликозида **2** идентифицированы рамноза, арабиноза, глюкоза и хедерагенин. Щелочным гидролизом **2** получен прогенин, идентичный гликозиду **1**.

Гликозиды **1** и **2**, по результатам гидролиза, ТСХ и спектральным данным аналогичны, соответственно, 3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→2)-*O*- α -*L*-арабинопиранозиду [23, 24] и 3-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1→2)-*O*- α -*L*-

арабинопиранозил-28-*O*- α -*L*-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 4)-*O*- β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-глюкопиранозиду хедерагенина [24]. Наибольшее содержание в сырье установлено для гликозида **2**.

Предложенный способ позволяет получать гликозиды из плющей с большим выходом, чем ранее предложенные [1, 17, 23]. Также преимуществами данного способа выделения являются проведение экстракционных процессов в мягких условиях, исключающих деструкцию гликозидов и образование артефактов, отсутствие необходимости в дорогостоящем оборудовании и малостадийность процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработан способ получения преобладающих тритерпеновых гликозидов **1** и **2** из листьев плющей крымского, канарского и обыкновенного.
2. Выход сапонинов из растительного сырья составил 1,7–2,9 % (для гликозида **1**) и 3,5–4,9 % (для гликозида **2**).

Список литературы

1. Hostettmann K. Saponins / K. Hostettmann, A. Marston. – Cambridge: Cambridge University Press, 1995. – 548 p.
2. Зузук Б. М. Плющ вьющийся *Hedera helix* L. (аналитический обзор) / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, Л. И. Зузук // Провизор. – 2003. – № 12. – С. 13–14.
3. α -Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β_2 -adrenergic receptors / A. Sieben, L. Prenner, T. Sorkalla [et al.] // Biochemistry. – 2009. – Vol. 48, № 15. – P. 3477–3482.
4. Boltshauser V. Wirkmechanismus von efeu entschlüsselt. Efeusaponine entfalten eine β -adrenerge Wirkung in den Atemwegen / V. Boltshauser // Phytotherapie. – 2006. – № 4. – S. 20–22.
5. Луценко Ю. О. Маркетингове та фармакоеконімічне дослідження ринку лікарських засобів України на основі плюща звичайного / Ю. О. Луценко, Г. Д. Гасюк, Р. Є. Дармограй // Клініч. фармац., фармакотер. та мед. стандартиз. – 2009. – № 1–2. – С. 170–174.
6. Синоверська О. Б. Ефективність препарату «Гербіон сироп плюща» у лікуванні дітей із гострим бронхітом / О. Б. Синоверська, С. В. Макян // Совр. педиатрия. – 2015. – № 1. – С. 50–56.
7. Колесник П. О. Оцінка ефективності препарату «Гербіон сироп плюща» залежно від терміну його призначення дітям з гострим простим бронхітом / П. О. Колесник, В. В. Петришак, С. В. Цяпеч // Совр. педиатрия. – 2015. – № 8. – С. 67–73.
8. Яковишин Л. А. Тритерпеновые гликозиды лекарственного препарата «Гедерин» / Л. А. Яковишин, В. И. Гришконец, И. А. Жолудь // Методы и объекты хим. анализа. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 119–123.
9. Когут Ю. Терапия кашля у детей с применением препаратов на растительной основе: отечественный опыт / Ю. Когут // Совр. педиатрия. – 2013. – № 2. – С. 70–73.
10. Яковішин Л. О. Тритерпенові глікозиди лікарського препарату «Пектолван плющ» / Л. О. Яковішин, В. І. Гришконець, О. М. Корж // Фармац. журн. – 2010. – № 3. – С. 56–60.
11. Листок-вкладыш по медицинскому применению лекарственного средства гедехил. – Режим доступа: <http://ft.by/preparaty/product/view/1/181>.
12. Розничный рынок препаратов для устранения симптомов простуды и кашля (R05) в России и странах СНГ // Ремедиум. – 2007. – № 8. – С. 62–64.
13. Kemertelidze E. P. Biologically active compounds and original remedies from plants growing in Georgia / E. P. Kemertelidze // Bull. Georg. Natl. Acad. Sci. – 2007. – Vol. 175, № 1. – P. 91–96.

14. Хедерикс+ (Hederix+). Инструкция по применению фитокомплекса. ООО «Витаукт-пром» (Россия), свидетельство о государственной регистрации № RU.77.99.11.003.E.046250.11.11 от 04.11.2011.
15. Яковишин Л. А. Сапонины фитокомплекса «Хедерикс+» / Л. А. Яковишин, В. И. Гришковец, Е. Н. Корж // Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 4. – С. 163–169.
16. Искендеров Г. Б. Химическое исследование тритерпеновых гликозидов ягод плюща обыкновенного / Г. Б. Искендеров, С. Ш. Мусаева // Химия растит. сырья. – 2015. – № 3. – С. 193–197.
17. Triterpenoid saponins from the leaves of *Hedera helix* / R. Elias, A. M. Diaz Lanza, E. Vidal-Ollivier [et al.] // J. Nat. Prod. – 1991. – Vol. 54, № 1. – P. 98–103.
18. Triterpene saponins from the fruits of *Hedera helix* / E. Bedir, H. Kirmizipekmez, O. Sticher, I. Calis // Phytochemistry. – 2000. – Vol. 53, № 8. – P. 905–909.
19. Studies on nepalese crude drugs III. On the saponins of *Hedera nepalensis* K. Koch / H. Kizu, S. Kitayama, T. Nakatani [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 1985. – Vol. 33, № 8. – P. 3324–3329.
20. Studies of the constituents of *Hedera rhombea* Bean. I. Glycosides of hederagenin / M. Shimizu, M. Arisawa, N. Morita [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 1978. – Vol. 26, № 2. – P. 655–659.
21. Triterpenoid saponins from berries of *Hedera colchica* / V. Mshvildadze, R. Elias, R. Faure [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2001. – Vol. 49, № 6. – P. 752–754.
22. Triterpenoid saponins from leaves of *Hedera pastuchowii* / V. Mshvildadze, R. Elias, R. Faure [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2004. – Vol. 52, № 12. – P. 1411–1415.
23. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А. С. Шашков, В. И. Гришковец, А. А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
24. 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. Гришковец, Д. Ю. Сидоров, Л. А. Яковишин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
25. Молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с L-тирозином и их биологическая активность / Л. А. Яковишин, А. В. Лекарь, Е. В. Ветрова [и др.] // Biopolym. Cell. – 2012. – Т. 28, № 1. – С. 62–67.

THE METHOD OF ISOLATION OF IVY LEAVES MAIN TRITERPENE GLYCOSIDES

Yakovishin L. A.¹, Grishkovets V. I.²

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

²V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Triterpene glycosides from ivy *Hedera* L. (Araliaceae Juss.) are one of the most important plant saponins. Ivy leaves have been used in folk medicine in several centuries. Triterpene glycosides α -hederin (hederagenin 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -L-arabinopyranoside, glycoside **1**) and hederasaponin C (hederacoside 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, glycoside **2**) are dominant saponins in the most species of the ivy genus.

We isolated glycoside **1** and **2** from leaves of Canary ivy *Hedera canariensis* Willd., common ivy *Hedera helix* L. and Crimean ivy *Hedera taurica* Carr.

Leaves of Canary ivy *Hedera canariensis* Willd., common ivy *Hedera helix* L. and Crimean ivy *Hedera taurica* Carr. (Araliaceae Juss.) (each of 500.0 g dry weight) were comminuted and defatted with chloroform-benzene (9:1) (each of 3 × 5000 ml); the glycosides were extracted with 70 % aqueous 2-propanol (each of 5 × 5000 ml). The total extractive substances so obtained were separated on 4000 g of SiO₂ with elution by water-saturated chloroform-ethanol (2:1→1:1). This yielded the glycosides **1** and **2**. Additional purification of the glycosides by the elimination of phenolic compounds was implemented by chromatography on SiO₂ with elution by chloroform-ethanol (2:1) saturated with 10 % aqueous NH₃ (for glycoside **1**) and elution by chloroform-ethanol (1:1) saturated with aqueous 10 % NH₃ (for glycoside **2**). As a result we obtained glycosides **1** and **2** (in terms for dry plant raw materials respectively: for leaves of *Hedera taurica* – 1,9 % and 3,5 %, leaves of *Hedera helix* – 1,7 % and 3,9 %, and leaves of *Hedera canariensis* – 2,9 % and 4,9 %).

The structure of glycosides **1** and **2** was confirmed by chemical (acid and alkaline hydrolysis), physical (FTIR, ¹³C NMR, EIMS) methods and TLC analysis.

Keywords: triterpene glycosides, α-hederin, hederasaponin C, ivy, chromatography, FTIR spectroscopy, mass spectroscopy, NMR spectroscopy.

References

1. Hostettmann K., Marston A., *Saponins*, 548 p. (Cambridge University Press, Cambridge, 1995).
2. Zuzuk B. M., Kutsik R. V., Zuzuk L. I., Ivy creeping *Hedera helix* L. (analytical review), *Provizor*, 12, 13 (2003). (in Russ.).
3. Sieben A., Prenner L., Sorkalla T., Wolf A., Jakobs D., Runkel F., Häberlein H., α-Hederin, but not hederacoside C and hederagenin from *Hedera helix*, affects the binding behavior, dynamics, and regulation of β₂-adrenergic receptors, *Biochemistry*, **48** (15), 3477 (2009).
4. Boltshauser V., Wirkmechanismus von efeu entschlüsselt. Efeusaponine entfalten eine β-adrenerge Wirkung in den Atemwegen, *Phytotherapie*, 4, 20 (2006).
5. Lutsenko Yu. O., Gasjuk A. D., Darmohray R. Ye., Marketing and pharmacoeconomic investigations of the medicines, based on the *Hedera helix* content, in ukrainian market, *Clinic. Pharm., Pharmacother. & Med. Standardiz.*, 1–2, 170 (2009). (in Ukr.).
6. Synoverska O., Makjan M., The effectiveness of the drug herbion ivy syrup in the treatment of children with an acute bronchitis, *Sovr. Pediatriya*, 1, 50 (2015). (in Ukr.).
7. Kolesnyk P., Petrishchak V., Tsyapets S., Evaluation of efficacy of syrup «Herbion ivy extract» depending on the timing of its appointment to children with acute bronchitis, *Sovr. Pediatriya*, 8, 67 (2015). (in Ukr.).
8. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Zholud I. A., Triterpene glycosides of the medicinal preparation “Hederin”, *Metody i Ob"ekty Himicheskogo Analiza*, **6** (2) 119 (2011). (in Russ.).
9. Kogut Yu., Cough therapy in children with plant-based drugs: domestic experience, *Sovr. Pediatriya*, 2, 70 (2013). (in Russ.).
10. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Korzh E. N., Triterpene glycosides of the medicinal preparation «Pectolvan *Hedera helix*», *Pharm. Zhurn.*, 3, 56 (2010). (in Ukr.).
11. Leaflet-liner for the medical use of the drug gedehil, Access mode: <http://ft.by/preparaty/product/view/1/181>. (in Russ.).
12. The retail market for drugs to eliminate the symptoms of colds and cough (R05) in Russia and CIS countries, *Remedium*, 8, 62 (2007). (in Russ.).
13. Kemertelidze E. P., Biologically active compounds and original remedies from plants growing in Georgia, *Bull. Georg. Natl. Acad. Sci.*, **175** (1) 91 (2007).
14. *Hederix+*, Instructions for use of phytocomplex, Vitauct-prom (Russia), certificate of state registration № RU.77.99.11.003.E.046250.11.11 on 04. 11. 2011. (in Russ.).

15. Yakovishin L. A., Grishkovets V. I., Korzh E. N., Saponins of the phytocomplex Hederix+, *Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **1** (4) 163 (2015). (in Russ.).
16. Iskenderov G. B., Musayeva S. Sh., Chemical investigation of triterpene glycosides of berries of common ivy, *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, **3**, 193 (2015). (in Russ.).
17. Elias R., Diaz Lanza A. M., Vidal-Ollivier E., Balansard G., Faure R., Babadjamian A., Triterpenoid saponins from the leaves of *Hedera helix*, *J. Nat. Prod.*, **54** (1) 98 (1991).
18. Bedir E., Kirmizipekmez H., Sticher O., Calis I., Triterpene saponins from the fruits of *Hedera helix*, *Phytochemistry*, **53** (8) 905 (2000).
19. Kizu H., Kitayama S., Nakatani T., Tomimori T., Namba T., Studies on nepalese crude drugs III. On the saponins of *Hedera nepalensis* K. Koch, *Chem. Pharm. Bull.*, **33** (8) 3324 (1985).
20. Shimizu M., Arisawa M., Morita N., Kizu H., Tomimori T., Studies of the constituents of *Hedera rhombea* Bean. I. Glycosides of hederagenin, *Chem. Pharm. Bull.*, **26** (2) 655 (1978).
21. Mshvildadze V., Elias R., Faure R., Debrauwer L., Dekanosidze G., Kemertelidze E., Balansard G., Triterpenoid saponins from berries of *Hedera colchica*, *Chem. Pharm. Bull.*, **49** (6) 752 (2001).
22. Mshvildadze V., Elias R., Faure R., Rondeau D., Debrauwer L., Dekanosidze G., Kemertelidze E., Balansard G., Triterpenoid saponins from leaves of *Hedera pastuchowii*, *Chem. Pharm. Bull.*, **52** (12) 1411 (2004).
23. Shashkov A. S., Grishkovets V. I., Loloyko A. A., Chirva V. Ya., Triterpene glycosides of *Hedera taurica* I. Structure of tauroside E from the leaves of *Hedera taurica*, *Khim. Prirod. Soedin.*, **3**, 363 (1987). (in Russ.).
24. Grishkovets V. I., Sidorov D. Yu., Yakovishin L. A., Arnautov N. N., Shashkov A. S., Chirva V. Ya., Triterpene glycosides of *Hedera canariensis* I. Structures of glycosides L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂, and L-I₁ from the leaves of *Hedera canariensis*, *Khim. Prirod. Soedin.*, **3**, 377 (1996). (in Russ.).
25. Yakovishin L. A., Lekar A. V., Vetrova E. V., Borisenko N. I., Borisenko S. N., Grishkovets V. I., Molecular complexes of the triterpene glycosides with L-tyrosine and their biological activity, *Biopolym. Cell.*, **28** (1) 62 (2012). (in Russ.).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Акименко Юлия Владимировна	Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, кандидат биологических наук, ассистент кафедры экологии и природопользования
Аралкина Мария Владимировна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 2 курса магистратуры факультета биологии и химии
Аралкин Олег Леонидович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающийся 2 курса магистратуры факультета биологии и химии
Аристова Надежда Ивановна	Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «ННИИВиВ “Магарач”», кандидат технических наук, старший научный сотрудник отдела аналитических исследований и инновационных технологий, e-mail: akademik_n@mail.ru
Архангельская Елена Валерьяновна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Баевский Михаил Юрьевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии
Бажин Владислав Юрьевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающийся 1 курса магистратуры факультета биологии и химии
Баскаков Павел Сергеевич	Белгородский государственный технологический университет им. В. Г. Шухова, кандидат технических наук, младший научный сотрудник НИИ «Наносистемы в строительном материаловедении»
Белогуб Николай Валерьевич	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающийся 5 курса заочного обучения факультета физической культуры и спорта

Бирюкова Елена Александровна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Боровков Андрей Борисович	ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биотехнологий и фиторесурсов, e-mail: spirit2000sev@yandex.ru
Брановицкая Татьяна Юрьевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры органической и биологической химии
Бугара Игорь Александрович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий
Вернигорова Наталья Александровна	Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, младший научный сотрудник кафедры экологии и природопользования
Власова Валерия Викторовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», магистр 1 курса кафедры медико-биологических основ физической культуры
Вяткина Оксана Валерьевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей и физической химии, e-mail: oksana_vyatkina@list.ru
Газель Елизавета Владимировна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», обучающаяся 4-го курса кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий
Грабовская Елена Юрьевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Гришин Юрий Владимирович	Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «ННИИВиВ “Магарач”», младший научный сотрудник отдела аналитических исследований и инновационных технологий

Гришковец Владимир Иванович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», доктор химических наук, профессор кафедры общей и физической химии
Джелдубаева Эльвиза Рашидовна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Дмитриева Елена Дмитриевна	Тульский государственный университет, кандидат химических наук, доцент кафедры химии
Егорова Наталья Алексеевна	ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией биотехнологии, e-mail: yegorova.na@mail.ru
Елаева Елена Евгеньевна	ФГБОУ ВО «Мордовский государственный педагогический институт имени М. Е. Евсевьева», кандидат медицинских наук, доцент, зав. кафедрой теории и методики физической культуры и спорта, e-mail: elaevalena@mail.ru
Еременко Виктор Иванович	Курская государственная сельскохозяйственная академия, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой эпизоотологии, радиобиологии и фармакологии, e-mail: vic.eriomenko@yandex.ru
Загорская Мargarита Сергеевна	ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», младший научный сотрудник лаб. биотехнологии, e-mail: zagorskayamargo@gmail.com
Ищенко Алина Валентиновна	Белгородский государственный технологический университет им. В. Г. Шухова, аспирант кафедры материаловедения и технологии материалов, e-mail: alina.ishchenko.92@mail.ru
Казеев Камиль Шагидуллович	Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, доктор географических наук, профессор кафедры экологии и природопользования
Кайбулаева Русана Серверовна	ГБОУРК «Крымская гимназия-интернат для одаренных детей», преподаватель химии, e-mail: rusana_kaybulaeva@mail.ru
Каримова Виолетта Тахировна	Тульский государственный университет, магистрант кафедры химии
Кирилин Кирилл Олегович	Медицинская академия им. С. И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», обучающийся 6-го курса 1-го медицинского факультета специальности «Лечебное дело»

Колесников Сергей Ильич	Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий кафедрой экологии и природопользования
Колотилова Оксана Ивановна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Комарова Нина Анатольевна	ФГБОУ ВО «Мордовский государственный педагогический институт имени М. Е. Евсевьева», кандидат биологических наук, доцент кафедры теории и методики физической культуры и спорта, e-mail: ninasm@bk.ru
Коношенко Екатерина Витальевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 2 курса магистратуры кафедры физиологии человека и животных и биофизики, факультета биологии и химии
Коренюк Иван Иванович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики
Кузина Анна Андреевна	Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник кафедры экологии и природопользования
Кускевич Татьяна Владимировна	Средняя общеобразовательная школа № 2 города Симферополя, учитель биологии
Леонтьева Мария Михайловна	Тульский государственный университет, магистр кафедры химии
Мараховская Татьяна Алексеевна	Южный федеральный университет, аспирант кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, e-mail: tmarakhovskaya@mail.ru
Маркина Светлана Ильинична	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 4 курса факультета биологии и химии
Меметшаева Ольга Александровна	ФГБУН «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН», ведущий инженер (аспирант) отдела биотехнологий и фиторесурсов, e-mail: olga.memetshaeva@mail.ru

Можаровская Ирина Алексеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 1 курса магистратуры кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии
Молчанов Андрей Олегович	Белгородский государственный технологический университет им. В. Г. Шухова, аспирант кафедры материаловедения и технологии материалов
Моспаненко Анна Федоровна	Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологий, соискатель кафедры экологии и природопользования
Нагаева Елена Ивановна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Омельченко Александр Владимирович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии и биотехнологий
Панов Денис Алесксандрович	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры общей и физической химии факультета биологии и химии, e-mail: panovda81@yandex.ru
Попов Марк Александрович	ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН», кандидат географических наук, научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: mark.a.popov@mail.ru
Прошина Ирина Васильевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 3 курса факультета биологии и химии
Стасенкова Юлия Владимировна	Курская государственная сельскохозяйственная академия, аспирант кафедры эпизоотологии, радиобиологии и фармакологии, e-mail: vic.eriomenko@yandex.ru
Строкова Валерия Валерьевна	Белгородский государственный технологический университет им. В. Г. Шухова, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Материаловедение и технология материалов»

- Туманянц
Каринэ Николаевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, директор Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика», e-mail: timur328@gmail.com
- Хусаинов
Денис Рашидович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: gangliu@yandex.ru
- Цикалов
Виктор Валентинович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии
- Цикалова
Виктория Николаевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии
- Чайка
Андрей Владимирович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: andrew.chajka@yandex.ru
- Челядина
Наталья
Станиславовна** ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН», кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела аквакультуры и морской фармакологии, e-mail: chelydina2007@mail.ru
- Черетаев
Игорь Владимирович** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: cheretaev86@yandex.ru
- Черный
Сергей Васильевич** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
- Чуян
Елена Николаевна** Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики

Шахматова Виктория Игоревна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», обучающаяся 1 курса магистратуры кафедры физиологии человека и животных и биофизики факультета биологии и химии
Шейх-Заде Мамет-Исмет	ГБОУ ВО РК «Крымский инженерно-педагогический университет», кафедра электромеханики и сварки, кандидат физико-математических наук, доцент
Якимова Елена Алексеевна	ФГБОУ ВО «Мордовский государственный педагогический институт имени М. Е. Евсевьева», кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой спортивных дисциплин и безопасности жизнедеятельности, e-mail: jakimovalena@mail.ru
Яковишин Леонид Александрович	ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой «Химия», e-mail: chemsevntu@rambler.ru
Ярмолюк Наталья Сергеевна	Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры
Яценко Михаил Владимирович	ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», кандидат биологических наук, доцент кафедры общей и прикладной психологии, e-mail: e.yatsenko@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

- Бугара И. А., Омельченко А. В., Газель Е. В., Кирилин К. О.**
ПОЛУЧЕНИЕ КАЛПУСНЫХ КУЛЬТУР *SRAMBE MARITIMA* L. И ИХ
ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА..... 3
- Вернигорова Н. А., Кузина А. А., Моспаненко А. Ф., Казеев К. Ш., Акименко Ю. В.,
Колесников С. И.**
ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КОРИЧНЕВЫХ КАРБОНАТНЫХ ПОЧВ КРЫМА К
ЗАГРЯЗНЕНИЮ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ И НЕФТЬЮ..... 11
- Грабовская Е. Ю., Белогуб Н. В., Архангельская Е. В.**
УРОВЕНЬ ФИЗИЧЕСКОЙ ПОДГОТОВЛЕННОСТИ И РАЗВИТИЕ
ДВИГАТЕЛЬНЫХ КАЧЕСТВ У ДЕТЕЙ СРЕДНЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА В
ГОРОДСКОЙ И СЕЛЬСКОЙ ШКОЛЕ..... 19
- Джелдубаева Э. Р., Туманянц К. Н., Чуюн Е. Н.**
ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЫШЦ КИСТИ И
ПРЕДПЛЕЧЬЯ У СПОРТСМЕНОВ АЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА..... 32
- Дмитриева Е. Д., Леонтьева М. М., Каримова В. Т.**
ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ТОРФОВ НА РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ
МИКРООРГАНИЗМОВ НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ РОДА *RHODOCOCCUS* В
ПРИСУТСТВИИ ГЕКСАДЕКАНА..... 43
- Елаева Е. Е., Якимова Е. А., Комарова Н. А.**
ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ С ЦЕЛЬЮ КОРРЕКЦИИ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ... 57
- Еременко В. И., Стасенкова Ю. В.**
ПОКАЗАТЕЛИ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КОРОВ,
ПРИНАДЛЕЖАЩИХ К РАЗНЫМ ЛИНИЯМ БЫКОВ..... 65
- Загорская М. С., Егорова Н. А.**
ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КЛОНАЛЬНОГО
МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO* СОРТОВ МЯТЫ АЖУРНАЯ
И БЕРГАМОТНАЯ..... 73
- Колотилова О. И., Черетаев И. В., Коренюк И. И.**
ВЛИЯНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ ВИАГРЫ И СОЛОДКИ И ИХ
МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
НЕЙРОНОВ МОЛЛЮСКА *HELIX ALBESCENS*..... 85
- Мараховская Т. А.**
РОЛЬ ФАКТОРОВ РОСТА В ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ..... 91
- Меметшаева О. А., Боровков А. Б.**
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК *DUNALIELLA VIRIDIS*
TEOD. В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ ПРИ НЕПРЕРЫВНОМ ОСВЕЩЕНИИ И
СВЕТО-ТЕМНОВЫХ ЦИКЛАХ..... 112

Нагаева Е. И., Бирюкова Е. А., Черный С. В., Власова В. В., Кускевич Т. В. РАЗВИТИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ НАВЫКОВ КООРДИНАЦИИ БАЛАНСИРОВОЧНЫХ ДВИЖЕНИЙ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА.....	123
Чайка А. В., Коношенко Е. В., Хусаинов Д. Р., Шахматова В. И., Можаровская И. А., Черетаев И. В. ТЕСТ ПОРСОЛТА КАК ЛОНГИТЮДНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ДИНАМИКИ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КРЫС В МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО УМЕРЕННОГО СТРЕССА	133
Челядина Н. С., Попов М. А. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ АКВАТОРИЙ В РАЙОНАХ РАЗМЕЩЕНИЯ МАРИХОЗЯЙСТВ (СЕВАСТОПОЛЬ, ЧЕРНОЕ МОРЕ)	148
Ярмолук Н. С., Колотилова О. И. ПЕРЕХОД НА ЗИМНЕЕ ВРЕМЯ ВЫЗЫВАЕТ ИЗМЕНЕНИЯ ИНФРАДИАННОЙ РИТМИКИ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА СПОРТСМЕНОВ	157
Яценко М. В. ПОКАЗАТЕЛИ УМСТВЕННОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ И ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА В РАЗНЫЕ ГОДЫ ОБУЧЕНИЯ В ВУЗЕ.....	164

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Брановицкая Т. Ю., Кайбулаева Р. С. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХАЛВЫ КОМБИНИРОВАННОГО СОСТАВА.....	172
Вяткина О. В., Аралкина М. В., Аралкин О. Л., Бажин В. Ю., Прошина И. В. ВЛИЯНИЕ МОРФОЛОГИИ ПОДЛОЖКИ НА КИНЕТИКУ ПЕРОКСИДАЗНОГО ОКИСЛЕНИЯ ГИДРОХИНОНА В СИСТЕМЕ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМ ФЕРМЕНТОМ, ЭКСТРАГИРОВАННЫМ ИЗ КОРНЕПЛОДОВ РЕДЬКИ ЧЕРНОЙ.....	183
Гришин Ю. В., Аристова Н. И., Панов Д. А. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ И ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ БЕЛЫХ ИГРИСТЫХ ВИН РАЗЛИЧНЫХ СТРАН-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ.....	193
Ищенко А. В., Баскаков П. С., Строкова В. В., Молчанов А. О. СТАБИЛИЗАЦИЯ И КОАЛЕСЦЕНЦИЯ ГИДРОФОБИЗИРУЮЩИХ ЭМУЛЬСИЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИСИЛОКСАНОВОЙ ЖИДКОСТИ.....	203
Цикалов В. В., Цикалова В. Н., Баевский М. Ю., Маркина С. И. СИНТЕЗ И ПРОГНОЗИРУЕМАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ β -АЛАНИНА	214
Шейх-Заде М.-И. ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ВНУТРЕННЕГО ВРАЩЕНИЯ В МОЛЕКУЛЕ АЗОТНОЙ КИСЛОТЫ.....	221

Яковшин Л. А., Гришковец В. И.	
СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ГЛАВНЫХ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ ПЛЮЩА	226
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	235
СОДЕРЖАНИЕ	242