



УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

ТАВРИЧЕСКОГО
НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА

им. В. И. Вернадского

Том 20 (59). № 2
БИОЛОГИЯ. ХИМИЯ

Симферополь
2007

Журнал основан в 1918 г.

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

Научный журнал

Серия «Биология, химия»

Том 20 (59). № 2

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
Симферополь, 2007

ISBN 1606-3715
Журнал зарегистрирован 23 ноября 1999 года
Серия КМ № 534

Редакционная коллегия журнала:

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

Редакционная коллегия серии «Биология, химия»

Биологические науки

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

Химические науки

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

© Таврический национальный университет, 2007 г.

Подписано в печать 01.11.2007. Формат 60x84 1/8 усл. изд. л. 10,6. Тираж 500. Заказ № 17/а.

Отпечатано в информационно-издательском отделе ТНУ.

Проспект Вернадского, 4, г. Симферополь, 95007

„Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського”

Науковий журнал. Серія «Біологія, хімія». Том 20 (59), № 2.

Сімферополь, Таврійський національний університет ім. В.І.Вернадського, 2007

Журнал заснований у 1918 р

Адреса редакції: Проспект Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007

Надруковано у інформаційно-видавничому відділі Таврійського національного університету ім. В.І.Вернадського

Проспект Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

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

Серия «Биология, химия». Том 20 (59). 2007. № 2. С. 3-9.

УДК 576.32.36:633

ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В ЯДРАХ СЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТОК ЛАВАНДЫ (*Lavandula angustifolia* Mill.)

Бугара А.М., Бугара И.А., Теплицкая Л.М.

Проведено количественное цитофлуориметрическое исследование ядерной ДНК в процессе дифференциации секреторных терпеноидогенных структур различных морфологических типов у лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.). Установлено, что в интерфазных ядрах дифференцированных секреторных клеток железистых волосков содержится кратно увеличенное количество ДНК, соответствующее 4С, что является результатом эндорепродукции и выхода в конечную дифференцировку в G₂-периоде. В интерфазных ядрах секреторных клеток дифференцированных железок выявлено 2С ДНК.

Ключевые слова: *Lavandula angustifolia*, секреторные клетки, ДНК.

ВВЕДЕНИЕ

Секреторная функция характерна для большинства растительных клеток. Однако у многих видов растений имеются специализированные клетки, для которых эта функция является преобладающей. К таким клеткам можно отнести терпеноидогенные клетки, которые особенно характерны для эфирномасличных растений. Эти клетки могут располагаться одиночно или входить в состав клеточных комплексов различной сложности, объединяемых под общим названием секреторные (железистые) структуры, при этом секреторные клетки являются их основным структурным и функциональным элементом.

Секреторные терпеноидогенные клетки имеют своеобразную морфологию. Методом электронной микроскопии было показано, что для них характерны крупные ядра и ядрышки, а также слабо вакуолизирующаяся цитоплазма, насыщенная органеллами. При этом главной отличительной особенностью терпеноидогенных клеток является сильное развитие агранулярного эндоплазматического ретикулума – органеллы, которая обычно слабо развита в растительных клетках [1,2]. Цитохимические исследования позволили обнаружить в ядрах секреторных терпеноидогенных клеток кратно увеличенное количество ДНК, что может служить показателем значительной гиперфункции. Так, в ядрах секреторных эфирномасличных клеток мяты (*Mentha piperita* L. и *M. aquatica* L.)

было выявлено 4С ДНК, а в ядрах секреторных клеток герани (*Pelargonium roseum* Willd.) как 4С, так и 8С. При этом клетки с кратно увеличенным содержанием ДНК в ядре характеризовались повышенной интенсивностью в отношении биосинтеза эфирного масла [3,4]. Однако такие количественные цитохимические показатели содержания ДНК в ядрах секреторных терпеноидогенных клеток получены пока для очень ограниченного числа видов. Это, естественно, не позволяет сделать обобщающие выводы о цитофизиологических особенностях секреторных терпеноидогенных клеток растений. В этой связи привлечение для исследований новых, ранее не изученных в этом отношении видов, представляет не только значительный теоретический интерес, но и имеет прикладное значение для селекционно-генетических исследований, направленных на создание сортов эфирномасличных растений с повышенной продуктивностью эфирного масла.

Целью настоящей работы являлось количественное цитофлуориметрическое исследование содержания ДНК в ядрах секреторных терпеноидогенных клеток лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили растения лаванды (*Lavandula angustifolia* Mill.) сорта Степная, выращиваемые в полевых условиях. Бутоны, находящиеся на ранних стадиях развития (длиной 1 – 1,5 мм), изолировали с растений и фиксировали в смеси Карнуа [5] в течение 4-х часов (2 часа при комнатной температуре и 2 часа при 4°C в холодильной камере). Чашелистики отделяли от бутонов и использовали для приготовления временных давленных препаратов. Для морфологических исследований секреторных клеток препараты окрашивали ацетокармином [5]. Линейные размеры клеток измеряли окулярным винтовым микрометром МОВ 1x15. Для количественного цитохимического выявления ДНК использовали окраску оливомицином [6].

Цитохимические исследования содержания ДНК проводили на цитофлуориметре, состоящим из люминесцентного микроскопа Люмам-ИЗ, насадки ФМЭЛ-1 и регистрирующего устройства. Количество ДНК в ядрах клеток оценивали в классах плоидности – С, при этом в качестве эталона, принимаемого за 2С, служило содержание ДНК в ядрах клеток эпидермиса. Количество ДНК в ядрах железистых волосков лаванды определяли на следующих основных стадиях дифференциации: 1 – эпидермальная клетка, 2 – инициальная клетка, 3 – апикальная клетка, 4 – секреторная клетка дифференцированного железистого волоска. В ядрах эфирномасличных железок на стадиях: 1 – эпидермальная клетка, 2 – инициальная клетка, 3,4 – апикальные клетки, 5 – железка с 2-клеточной головкой, 6 – железка с 4-клеточной головкой, 7 – секреторные клетки дифференцированной 8-клеточной головки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические исследования позволили выявить на чашелистиках лаванды два типа дифференцированных железистых структур: 3-клеточные железистые волоски с одной секреторной клеткой-головкой и 10-клеточные железки, имеющие головку

ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДНК

из 8 секреторных клеток (рис. 1). Дифференциация обоих типов железистых структур происходила из клеток эпидермиса. Начало процесса дифференциации обнаруживалось визуально по обособлению в эпидермисе инициальной клетки. В результате митотического деления инициальной клетки наблюдалось образование двух клеток – базальной и апикальной (2-клеточный комплекс). Апикальная клетка вновь вступала в митоз, что приводило к образованию универсального 3-клеточного комплекса состоящего из базальной клетки, промежуточной клетки-ножки и апикальной клетки. Если процесс дифференциации на этом заканчивался, то это приводило к образованию 3-клеточного железистого волоска, апикальная клетка которого приступала к выполнению секреторной функции. Однако, если апикальная клетка, входящая в состав 3-клеточного комплекса, проходила три волны синхронных митозов, то результатом являлось последовательное образование железки, головка которой состояла из 2-х, 4-х и, наконец, из 8-ми секреторных клеток.

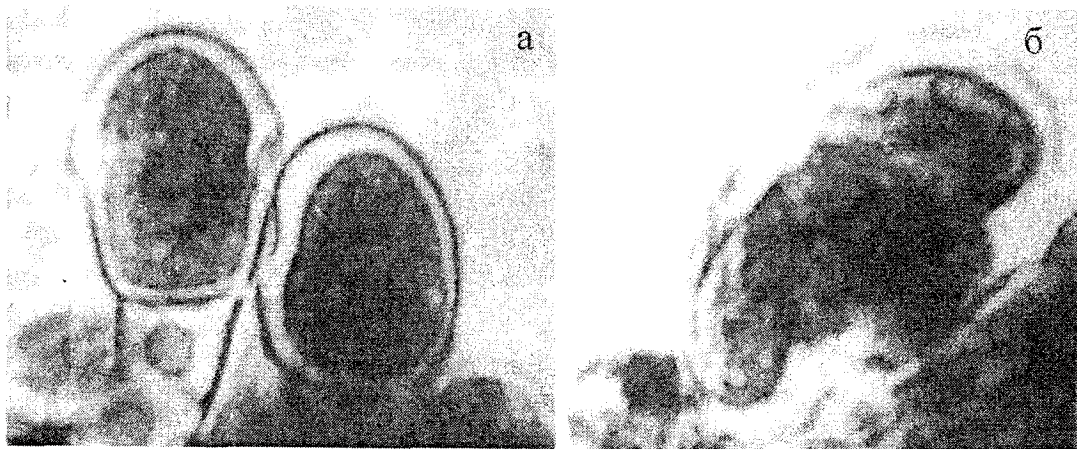


Рис. 1. Дифференцированные секреторные структуры различных морфологических типов на чашелистиках лаванды: а – 3-клеточные железистые волоски, б – 10-клеточные железки.

Диаметр секреторной клетки, образующей головку железистого волоска, находился в пределах 10 – 20 мкм, а диаметр 8-клеточной головки железки – в пределах 80 – 120 мкм. Секреторные клетки, входящие в состав железистых структур, имели крупные ядра с хорошо выраженным ядрышком, а также плотную цитоплазму с мелкими вакуолями. При этом расположенные рядом обычные эпидермальные (не секреторные) клетки характеризовались сильной вакуолизацией, имели ядра и ядрышки относительно небольшого размера, цитоплазма в таких клетках располагалась, как правило, тонким слоем вдоль клеточной стенки ввиду сильно развитой системы вакуолей.

На рисунке 2 представлены кривые изменения содержания ядерной ДНК на последовательных стадиях дифференциации секреторных структур. Из представленных результатов следует, что клетки эпидермиса чашелистиков лаванды

содержали в интерфазных ядрах 2С ДНК. На стадии инициальной клетки содержание ДНК в ядре приближалось к 4С, что связано с прохождением S- и G₂-периодов интерфазы. Такой же уровень ДНК обнаруживался в ядре апикальной клетки сразу после митоза, что указывает на укорочение G₁-периода и очень быстрое вступление клеток в синтетический S-период. После деления апикальной клетки секреторная клетка уже сформированного железистого волоска содержала 4С ДНК и сохраняла его на этом постоянном уровне.

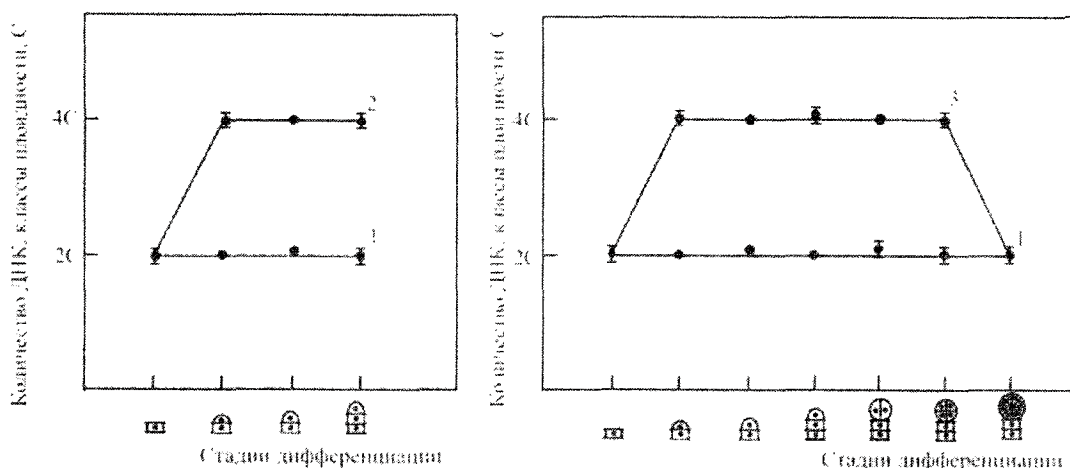


Рис 2. Динамика количественных изменений ДНК в процессе дифференциации секреторных структур лаванды: 1 – эпидермальная клетка, 2 – железистые волоски, 3 – железки с многоклеточной головкой

Таким образом, в процессе дифференциации железистых волосков наблюдалось несколько циклов репликации ДНК. Первый цикл репликации обнаруживался в инициальной клетке эпидермиса и завершался полным прохождением митоза, результатом которого являлось образование апикальной клетки 2-клеточного комплекса. Второй репликативный цикл выявлялся в апикальной клетке накануне митоза, приводящего к формированию 3-клеточного комплекса. В результате третьего цикла репликации, но уже без последующего митоза, наблюдалось увеличение количества ДНК до 4С, в результате чего дифференцированная секреторная клетка железистого волоска содержала кратно увеличенный уровень ДНК по сравнению с обычными клетками эпидермиса.

Ранние стадии дифференциации железок с многоклеточной головкой во многом напоминали этот процесс у железистых волосков. Среднее количество ДНК, близкое к 4С, сохранялось вплоть до стадии 4-клеточной головки. Однако ядра дифференцированных секреторных клеток 8-клеточной головки содержали 2С ДНК и не отличались по этому показателю от обычных клеток эпидермиса. Следовательно, в данном случае на заключительном этапе дифференциации процесс репликации ДНК в клетках 4-клеточной головки завершался полным прохождением митоза без последующей эндорепродукции.

ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДНК

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить некоторые морфологические и цитологические особенности секреторных терпеноидогенных клеток, входящих в состав железистых структур лаванды. Установлено, что эти клетки отличались от обычных клеток эпидермиса крупными ядрами и ядрышками, а также плотной цитоплазмой со слабо развитой системой вакуолей. Особый интерес представляют результаты цитофлуориметрического анализа ДНК в ядрах секреторных терпеноидогенных клеток, входящих в состав железистых структур. Как было показано, дифференцированные секреторные клетки железистых волосков и железок отличались по содержанию ДНК в интерфазных ядрах. Так, единственная секреторная клетка железистого волоска имела 4С ДНК в ядре, а каждая из 8 секреторных клеток железок – 2С. Следовательно, в интерфазных ядрах специализированных секреторных клеток железистых структур различных морфологических типов было выявлено различное содержание ДНК.

Установленный факт дает основание считать, что в процессе дифференциации железистых волосков лаванды на заключительной стадии наблюдается кратное увеличение количества ДНК в ядре как результат сокращения клеточного цикла. Известно, что кратное увеличение количества ДНК в ядре может быть обусловлено двумя основными причинами. Это увеличение может являться результатом полиплоидии или политении [5]. Полиплоидия возникает в результате удвоения числа хромосом в соматической клетке и является, как правило, следствием полиплоидизирующего митоза, остановленного на той или иной стадии. Политения представляет собой удвоение, обычно многократное, числа хромосом (хроматид) в диплоидном наборе хромосом. В данном случае выпадает весь механизм митоза, и клетка блокируется в G_2 -периоде. При этом структура цикла включает всего два периода – синтетический и межсинтетический.

Из изложенных фактов естественно возникает вопрос, как соотносить уже известные данные с полученными нами результатами, показавшими кратное увеличение содержания ДНК в секреторных клетках железистых волосков лаванды. Анализ морфологических изменений, происходящих в процессе дифференциации железистых волосков, показал полное отсутствие картин полиплоидизирующего митоза. Секреторные клетки, содержащие 4С ДНК в ядре, имели типичную интерфазную организацию, в них обнаруживались крупные хромоцентры и одно крупное ядрышко. Проведенные нами морфологические и цитохимические исследования дают основание полагать, что в данном конкретном случае полиплоидия как вариант умножения генома маловероятна. Вместе с тем секреторные клетки железистых структур лаванды нельзя отнести к классическим случаям политении, так как она предполагает все же серию многократно повторяющихся репликаций. Однако в процессе дифференциации железистых волосков эндорепродукция наблюдалась всего один раз, и рассматривать этот факт как случай классической политении было бы не совсем правильно.

Случай кратного увеличения содержания ДНК в клетках растений довольно распространенное явление. Различным аспектам этой проблемы посвящено значительное количество работ. Клетки, с кратно увеличенным по отношению к диплоидному уровню содержанием ДНК, описаны в тканях корня, стебля, листа,

зародыша, эндосперма, семядолей, пыльника [7-9]. Во всех исследованных случаях авторы указывали на более высокий уровень функциональной активности клеток с кратно увеличенным содержанием ДНК в ядре.

Вероятно, кратное увеличение количества ДНК в ядрах секреторных клеток железистых волосков лаванды придает этим клеткам целый ряд полезных свойств. Следствием выхода клеток в конечную дифференцировку в G_2 -периоде, и обусловленное этим кратное повышение содержания ДНК в ядре, является удлинение активной жизни клетки из-за исключения процесса митоза. Хромосомы таких клеток находятся в интерфазе, а, следовательно, всегда в активном состоянии. В этой связи потенциал таких клеток не расходуется на синтез структурных и ферментных белков, необходимых для прохождения митоза, а целиком используется на синтез необходимых продуктов, в данном конкретном случае компонентов эфирного масла (терпеноидов).

В связи с вышеизложенными рассуждениями естественно возникает вопрос о тех механизмах, которые могут ограничивать прохождение полного митоза в процессе дифференциации железистых волосков. Одна из таких причин может быть заключена в не активности собственно митотических генов. Хорошо известно, что прохождение фаз митотического цикла контролируется на генетическом уровне и определяется спецификой транскрипции и синтезом специфических белков [10]. И хотя многие из этих белков еще не идентифицированы, их влияние на прохождение отдельных фаз митотического цикла проявляется достаточно отчетливо. Не исключено, что в процессе дифференциации железистых волосков блокирование определенных генов обуславливает отсутствие в клетке специфических белков, ответственных за прохождение цитокинеза.

Вместе с тем возможны и другие механизмы, ограничивающие прохождение полных митозов. При этом одним из главных, на наш взгляд, механизмом может быть конкурентное взаимодействие внутриклеточных метаболических процессов. Известно, что клетки могут осуществлять одновременно и специфические и пролиферативные синтезы [11]. Однако эти процессы могут находиться, до некоторой степени, в конкурентных отношениях. Если рассматривать этот аспект применительно к нашим данным, то, как было отмечено, вплоть до образования описанного выше комплекса из трех клеток – апикальной, промежуточной и базальной, реализуется программа полного прохождения митоза. Однако если допустить, что на данной стадии апикальная клетка приступает к биосинтезу компонентов эфирного масла, то их синтез может выступать как один из факторов, ограничивающих деление клетки при сохранении S- и G_2 -периодов. По-видимому, в данном конкретном случае речь может идти о подавлении программы полного прохождения митоза со стороны специфических продуктов биосинтеза, которыми являются вещества терпеноидной природы.

ВЫВОДЫ

1. Дифференцированные терпеноидогенные структуры на чашелистиках лаванды представлены двумя основными типами – железистыми волосками и железками, содержащими в интерфазных ядрах секреторных клеток 4С и 2С ДНК.

2. Кратное увеличение содержания ДНК в дифференцированных секреторных клетках железистых волосков до 4С связано с блокированием митоза и выходом клеток в конечную дифференцировку в G₂-периоде клеточного цикла.

Список литературы

1. Васильев А.Е. Функциональная морфология секреторных клеток растений. – Л.: Наука. 1977. – 207 с.
2. Теплицкая Л.М. Особенности морфологии и дифференцировки железистого аппарата мяты в связи с интенсивностью и направленностью маслообразовательного процесса: Дис... канд. биол. наук: 03.00.05. – Симферополь, 1982. – 234 с.
3. Вишневский С.О., Бугара А.М., Бугаенко Л.А. Морфологическое и кариометрическое исследование секреторных клеток мяты // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34. – №3. – С.3 – 9.
4. Бугара А.М., Теплицкая Л.М. Цитофлуориметрическое и цитофотометрическое исследование нуклеиновых кислот и белков в секреторных терпеноидогенных клетках *Pelargonium roseum* Willd. // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Биология, химия. – 2004. – Т.17. – №1(56). – С. 3 – 7.
5. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос. 1980. – 304 с.
6. Бородина В.М., Сондоре О.Ю., Зеленин А.В. Использование антибиотика оливомицина для цитохимического изучения хроматина // Цитология. – 1979. – Т.21. – №9. – С. 1036 – 1040.
7. Cremonini R., Cionini P. Extra DNA synthesis in embryo suspensor cells of *Phaseolus coccineus* // Protoplasma. – 1977. – V. 91. N3. – P. 303 – 317.
8. Иванов В.Б. Клеточные основы роста растений. – М.: Наука. 1974. – 223 с.
9. Резникова С.А. Цитология и физиология развивающегося пыльника. – М.: Наука. 1984. – 270 с.
10. Епифанова О.И., Терских В.В., Полуновский В.А. Покоящиеся клетки. – М.: Наука, 1983. – 180 с.
11. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференцировка. – М.: Наука, 1981. – 259 с.

Бугара О.М., Бугара Л.О., Теплицкая Л.М. Цитофлуориметричне дослідження вмісту ДНК в ядрах секреторних клітин лаванди (*Lavandula angustifolia* Mill.) // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія“. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 3-9.

Проведено кількісне цитофлуориметричне дослідження ядерної ДНК в процесі диференціації секреторних терпеноїдогенних структур різних морфологічних типів у лаванди (*Lavandula angustifolia* Mill.). Встановлено, що в інтерфазних ядрах диференційованих секреторних клітин залістистих волосків міститься кратно збільшена кількість ДНК – 4С, що є результатом ендорепродукції і виходу в кінцеве диференціювання в G₂-періоді. В інтерфазних ядрах секреторних клітин диференційованих залоз виявлено 2С ДНК.

Ключові слова: *Lavandula angustifolia*, секреторні клітини, ДНК.

Bugara A.M., Bugara L.A., Teplitskaya L.M. The cytofluorimetric study of DNA content in nucleus of secretory cells of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 3-9.

Cytofluorimetric content of DNA in secretory cells of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) during differentiation were investigated. It was shown, that interphase nucleus of secretory cells of gland hair content 4C DNA. Quantity 4C DNA is the result of endoreproduction and yield in terminal differentiation in G₂-period. Interphase nucleus of gland content 2C DNA.

Keywords: *Lavandula angustifolia*, secretory cells, DNA.

Поступила в редакцію 06.07.2007 г.

УДК:615.821.2:616.85:612,21]-053,2

КОРРИГИРУЮЩИЕ ВЛИЯНИЯ РЕФЛЕКТОРНО-МЫШЕЧНОГО МАССАЖА НА СИСТЕМУ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ ДЕТЕЙ С НЕВРОЗОПОДОБНЫМИ СОСТОЯНИЯМИ НА РЕЗИДУАЛЬНО-ОРГАНИЧЕСКОЙ ОСНОВЕ

Буков Ю. А., Жмурова Т.А.

В статье представлены данные, показывающие эффективность использования рефлекторно-мышечного массажа в сочетании с медикаментозной терапией при реабилитации детей младшего школьного возраста с неврозоподобными состояниями. Предложенная схема реабилитационных воздействий оказывает корригирующее влияние на систему внешнего дыхания детей, повышая ее адаптационные возможности.

Ключевые слова: дети, неврозоподобные состояния, система внешнего дыхания, рефлекторно-мышечный массаж.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время заметно участились пограничные нервно-психические состояния, которые вызваны как различными поражениями ЦНС, так и воздействиями патогенных факторов, способствующих возникновению невротических и неврозоподобных расстройств [1, 2].

В основе неврозоподобных состояний лежит легкая резидуальная церебральная патология вследствие дородового дизонтогенеза или перенесенных после рождения заболеваний нервной системы, травматической, инфекционной и другой этиологии, а также соматическая патология. Большинство клинических форм неврозоподобных состояний имеют общую патогенетическую несостоятельность гипотоламо-лимбических структур мозга, приводящую к последующим расстройствам корковой нейродинамики с соответствующими клиническими проявлениями. Формированию неврозоподобных состояний способствуют вегетативно-сосудисто-аллергическая реактивность организма, а также нарушения ликвородинамики, нередко в виде гипертензивного или приобретенного синдрома. В ряде случаев играет роль непосредственное воздействие интоксикации или гипоксии на нервные клетки. Основу моносимпатических неврозоподобных нарушений составляет врожденная или приобретенная функциональная слабость тех или иных органов и систем, нейрорегуляторных механизмов определенных функций [3, 4].

Как свидетельствуют данные Вейна А.М. (1998), наиболее часто неврозоподобные состояния диагностируются в возрасте 7-8 лет, где астенические проявления встречаются у 25% детей, страдающих неврозами. Одной из характерных особенностей общей астенизации организма у этой категории детей

КОРРИГИРУЮЩИЕ ВЛИЯНИЯ РЕФЛЕКТОРНО-МЫШЕЧНОГО МАССАЖА

является ослабление респираторной функции, что может сопровождаться сдвигом гомеостатических констант организма, нарушениями обменных процессов [5, 6].

В этой связи наряду с традиционным медикаментозным лечением, имеющим специфическую направленность, необходимо использовать дополнительные стимулирующие факторы, позволяющие усилить лечебный эффект за счет активизации саногенетических механизмов. К числу таких факторов можно отнести рефлекторно-мышечный массаж глубокого воздействия, который за счет рефлекторного механизма обеспечивает интеграцию моторно-висцеральных взаимоотношений, в том числе влияя на респираторную систему [7]. Однако в доступной литературе отсутствуют сведения о сочетанном применении медикаментозной терапии и массажных процедур, что, на наш взгляд, является определенным упущением в обеспечении рациональной реабилитационной помощи для данной категории больных.

В связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось установление корригирующего влияния рефлекторно-мышечного массажа на систему внешнего дыхания детей с неврозоподобными состояниями на резидуально-органической основе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 36 мальчиков в возрасте 8-10 лет, с неврозоподобными состояниями на резидуально-органической основе, проходящих курс лечения в условиях специализированного психиатрического учреждения. Функции системы внешнего дыхания детей изучали спиропневмотахометрическим методом с помощью прибора «СпироТестРС» с компьютерной обработкой регистрируемых показателей. При этом фиксировали следующие функциональные показатели: объем легочной вентиляции (VE, л/мин), дыхательный объем (VT, мл), частоту дыхательных движений (f, цикл/мин), жизненную емкость легких (VC, л), объем форсированного выдоха за 1 секунду (FVC₁, л), пиковую объемную скорость (PIF, л/с), среднюю объемную скорость (СОС₂₅₋₇₅, л/с). Фракционное содержание кислорода и углекислого газа в пробах (F_EO₂, F_ECO₂, об. %) выдыхаемого воздуха определяли с использованием газоанализаторов ПГА-КМ и ПГ-ДУМ. Объемные показатели приводились к условиям ВTPS, а показатели газообмена к альвеолярным. Исследования проводились как в состоянии относительного покоя, так и после стандартной физической нагрузки. В качестве нагрузочного теста использовали велоэргометрическую нагрузку ступенчато повышающейся мощности.

Рефлекторно-мышечный массаж проводили детям основной группы (18 человек) на фоне стандартной медикаментозной коррекции. Использовали курсовое применение массажных процедур средней интенсивности в течение 10 дней. Длительность одного сеанса составляла 10-12 минут. Всего было проведено 10 процедур массажа. Дети контрольной группы (18 человек) также проходили медикаментозное лечение в сочетании с классическим массажем.

Полученные результаты обрабатывались методами вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали фоновые исследования основной и контрольной групп, для большинства детей характерным было значительное отставание функциональных показателей респираторной системы относительно возрастной нормы. Наиболее существенные негативные изменения отмечены в механике дыхания, где большая часть показателей бронхиальной проходимости не превышала в среднем 75,0% должных значений. На фоне избыточной вентиляции у детей в состоянии покоя отмечался тахипноический тип дыхания. Избыточная легочная вентиляция обуславливала изменения и в газовом составе организма. В частности, отмечено снижение парциального давления углекислого газа в пробах выдыхаемого воздуха до 15,0 мм рт. ст. и рост парциального давления кислорода до 130,0 мм рт.ст. Высокая вентиляционная реактивность являлась, очевидно, основной причиной низкой эффективности респираторной системы детей: вентиляционный эквивалент по кислороду достигал значений 50,0 отн.ед.

Использование дозированной физической нагрузки в качестве функциональной пробы позволило выявить низкий уровень адаптационных резервов респираторной системы обследуемых. Увеличение метаболического запроса организма сопровождалось неадекватным ростом вентиляционной реакции. Частота дыхания достигала значений на пике нагрузки 48,0 цикл/мин при объеме легочной вентиляции в 38,0 л/мин. Показатели функциональных резервов респираторной системы значительно уменьшились по отношению к состоянию покоя. Так, ЖЕЛ снизилась примерно на 200 мл, ($p \leq 0,05$), а показатели бронхиальной проходимости на всех уровнях бронхиального дерева практически не изменились. Уменьшение фракционной доли резервного объема выдоха в структуре VC свидетельствовало о перестройке паттерна дыхания в сторону усиления роли частотного компонента в обеспечении вентиляционной реакции. Частое и поверхностное дыхание сопровождалось снижением его эффективности, о чем свидетельствовал рост дыхательного коэффициента на пике нагрузке до $0,90 \pm 0,06$ отн.ед. ($p \leq 0,01$). Выявленный низкий адаптационный резерв системы внешнего дыхания способствовал формированию гипервентиляционного синдрома у обследуемых детей при выполнении физических нагрузок, что можно классифицировать как относительную недостаточность респираторной системы. Полученные данные подтверждают данные о соматизации психологических расстройств в детском возрасте [3].

Проведенные корригирующие воздействия с использованием рефлекторно-мышечного массажа показали свою высокую эффективность по сравнению с традиционной схемой лечения. В таблице 1 представлены исследуемые показатели системы внешнего дыхания у детей основной и контрольной групп, зарегистрированные по завершению курса реабилитации.

Предложенная схема корреляции способствовала росту резервов мощности и эффективности системы внешнего дыхания у детей основной группы. Так, в состоянии относительного покоя выявлено формирование нормопноического типа дыхания, характеризующегося снижением V_E до $9,0 \pm 0,1$ л/мин, ($p \leq 0,01$) и частоты дыхательных движений до $16,6 \pm 0,8$ цикл/мин, ($p \leq 0,01$). Перестройка паттерна

КОРРИГИРУЮЩИЕ ВЛИЯНИЯ РЕФЛЕКТОРНО-МЫШЕЧНОГО МАССАЖА

дыхания в сторону экономизации сопровождалась улучшением условий для осуществления газообменной функции. Процентная величина утилизации кислорода возросла до $3,3 \pm 0,2$ об.%, ($p \leq 0,05$). Вместе с тем, в состоянии покоя не выявлено различий в показателях бронхиальной проходимости у детей основной и контрольной групп.

Таблица 1.
Показатели адаптационных резервов системы внешнего дыхания детей основной и контрольных групп после реабилитационных воздействий ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Показатели	Условия				Достоверность	
	Покой		Нагрузка		Покой	Нагрузка
	Контрольная	Основная	Контрольная	Основная	P_{1-2}	P_{3-4}
f, цикл/мин	$21,3 \pm 0,8$	$16,6 \pm 0,8$	$47,2 \pm 1,3$	$28,3 \pm 1,3$	$\leq 0,01$	$\leq 0,001$
V_T , мл	$688,0 \pm 30,0$	$599,0 \pm 30,0$	$820,0 \pm 30,0$	$928,0 \pm 40,0$	$\leq 0,05$	$\leq 0,05$
V_E , л/мин	$14,4 \pm 1,5$	$2,9 \pm 0,1$	$38,7 \pm 1,3$	$26,3 \pm 1,8$	$\leq 0,01$	$\leq 0,001$
VC, л	$1,9 \pm 0,8$	$2,1 \pm 0,8$	$1,7 \pm 0,6$	$2,4 \pm 0,1$	$\geq 0,05$	$\leq 0,01$
ΔFO_2 , об.%	$2,7 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,1$	$3,7 \pm 0,3$	$\leq 0,05$	$\leq 0,01$
$P_E O_2$, мм рт.ст.	$129,7 \pm 1,6$	$126,2 \pm 1,7$	$131,1 \pm 2,1$	$122,6 \pm 1,8$	$\geq 0,05$	$\leq 0,01$
$P_E CO_2$, мм рт.ст.	$16,3 \pm 1,1$	$17,1 \pm 0,5$	$16,8 \pm 1,5$	$21,7 \pm 1,4$	$\geq 0,05$	$\leq 0,01$
PIF, л/с	$3,3 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,1$	$3,9 \pm 0,2$	$\geq 0,05$	$\leq 0,01$
COС ₂₅₋₇₅ , л/с	$2,5 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,2$	$2,5 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,2$	$\geq 0,05$	$\leq 0,01$
FVC ₁ , л/с	$1,6 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$	$\geq 0,05$	$\leq 0,05$

Однако при предъявлении организму дополнительных функциональных требований в виде физических нагрузок отмечены существенные отличия в адаптационных резервах системы внешнего дыхания детей основной группы по сравнению с контрольной. Одним из проявлений этих отличий являлась экономизация вентиляторной реакции на действие внешнего раздражителя. Так, разница в групповых показателях V_E на пике нагрузки составляла примерно 12,0 л/мин ($p \leq 0,01$). Вместе с тем, высокие величины частоты дыхательных движений и объема легочной вентиляции у детей контрольной группы при выполнении физических нагрузок на фоне элиминации метаболического CO_2 (показатели pCO_2 в выдыхаемом воздухе снизились до $16,8 \pm 1,5$ мм рт.ст.) позволяют говорить о проявлении гипервентиляционного синдрома. Очевидно, к причинам вентиляционной недостаточности следует отнести слабость респираторной мускулатуры и снижение объемной скорости воздушного потока в бронхах различного калибра по сравнению с детьми основной группы. Так, величина VC в группе контроля снизилась на 200 мл ($p \leq 0,05$), пиковая объемная скорость форсированного выдоха составляла $3,3 \pm 0,1$ л/с, тогда как в основной группе этот показатель достигал значений $3,9 \pm 0,2$ л/с ($p \leq 0,01$). Следует отметить, что экономизация вентиляторной функции при нагрузочном тестировании способствовала росту эффективности системы внешнего дыхания у детей основной группы (рис. 1).

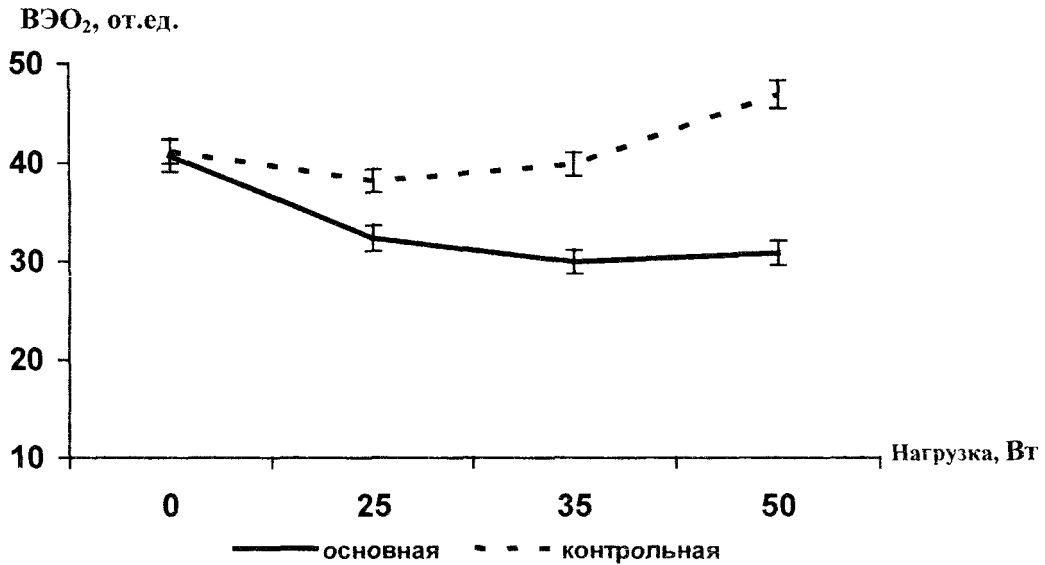


Рис. 1 Динамика эффективности системы внешнего дыхания у детей основной (сплошная линия) и контрольной (пунктирная линия) групп при выполнении физических нагрузок различной интенсивности.

На каждой ступени нагрузочного тестирования увеличение объема легочной вентиляции вследствие роста метаболического запроса организма у детей основной группы сопровождалось усилением процессов утилизации кислорода. Вентиляторную реакцию в этом случае следует считать адекватной. Можно предположить, что повышение потенциальных возможностей респираторной мускулатуры под влиянием рефлекторно-мышечного массажа приводило к снижению энергетических трат дыхательных мышц по обеспечению вентиляторной функции. Рабочее гиперпноэ в данном случае не превышало 40,0% максимальной произвольной вентиляции легких и в этих условиях основная часть поступающего в организм кислорода использовалась скелетной мускулатурой. У детей контрольной группы гипервентиляция, составлявшая более 75,0% MVC, сопровождалась напряженным функционированием респираторной мускулатуры, когда большая часть кислорода использовалась для метаболических нужд дыхательных мышц.

Таким образом, рефлекторно-мышечный массаж глубокого воздействия оказывает корригирующее действие на систему внешнего дыхания детей. Использование данного вида массажа в системе реабилитации детей с неврозоподобными состояниями обеспечивает усиление реабилитационного эффекта в первую очередь за счет расширения функциональных резервов респираторной системы, что благоприятным образом сказывается на общем состоянии детей. Кроме того, рефлекторный мышечный массаж является мощным профилактическим средством формирования дыхательной недостаточности как проявления астенического синдрома у детей с неврозоподобными состояниями.

ВЫВОДЫ

1. Рефлекторно-мышечный массаж глубокого воздействия оказывает корригирующее действие на систему внешнего дыхания детей.
2. Использование данного вида массажа в системе реабилитации детей с неврозоподобными состояниями обеспечивает усиление реабилитационного эффекта за счет расширения функциональных резервов респираторной системы.
3. Рефлекторный мышечный массаж является мощным профилактическим средством формирования дыхательной недостаточности как проявления астенического синдрома у детей с неврозоподобными состояниями.

Список литературы

1. Крук И.В. Церебрастенические состояния у детей дошкольного возраста. – Киев: Здоровье, 1990. – 132 с.
2. Вегетативные расстройства: Клиника, лечение, диагностика. / Под ред. А.М. Вейна. – М.: Медицина, 2000. – 752 с.
3. Антропов Ю.Ф., Бельмер С.В. Клинико-патогенетические закономерности психических расстройств в детском возрасте // Педиатрия. – 2004. – № 5. – С. 56 – 61.
4. Дитяча психоневрологія /Л.О. Булахова, О.М. Саган, С.М. Зінченко та ін.; За ред. Л.О. Булахової. – К.: Здоров'я, 2001. – 496 с.
5. Вейн А.М., Молдовану И.В. Нейрогенная гипервентиляция. – Кишинев: Штиинца, 1988. – 179 с.
6. Брезгунов И.П., Харьковская И.А., Абалакина М.В., Лукина О.Ф. Нейрогенная одышка у детей. // Педиатрия. – 2001. – №1. – С. 50 – 52.
7. Аксенова А.М. Новая методика глубокого рефлекторно-мышечного массажа. // Вопросы курортологии, физиотерапии, лечебной физической культуры. – 1997. – №4. – С. 30-33.

Буков Ю.О., Жмурова Т.А. Корригуючі впливи рефлекторно-м'язового масажу на систему зовнішнього дихання дітей з ніврозоподібними станами на резидуально-органічній підставі // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 10-15.

В статті представлені дані, які показують ефективність використання рефлекторно-м'язового масажу разом з медикаментозною терапією при реабілітації дітей шкільного віку з ніврозоподібними станами. Запропонована схема реабілітаційних впливів оказує корригуючий вплив на систему зовнішнього дихання дітей, підвищує її адаптаційні можливості.

Ключеві слова: діти, ніврозоподібні стани, система зовнішнього дихання, рефлекторно-м'язовий масаж.

Bukov Y.A., Zhmurova T.A. Corrigent influences of reflex and muscular massage on the system of external respiration of children in pseudoneurotic state on the residual-organic basis. // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 10-15.

The article presents data showing effectiveness of using reflex and muscular massage in combination with pharmacotherapy in the process of rehabilitating schoolchildren in pseudoneurotic state. The suggested scheme of rehabilitative influences has corrigent impact on the system of children's external respiration, increasing its adaptive abilities.

Keywords: children, pseudoneurotic state, the system of external respiration, reflex and muscular massage.

Поступила в редакцію 25.10.2007 г.

УДК 631.4:576.6.01

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ И ФИТОТОКСИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПОЧВ КРЫМА ПЕСТИЦИДАМИ И ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Ибрагимова Э.Э.

В сельскохозяйственных угодьях, расположенных вдоль автострад, обнаружены остаточные количества пестицидов (Байлетон, БИ-58, Инсегар) в незначительных количествах и тяжелые металлы (свинец, медь, цинк). Почвы, загрязненные остаточными количествами пестицидов и тяжелыми металлами, оказывают комплексный фитотоксический эффект, проявляющийся в ингибировании ростовых процессов корешков *Allium cepa* L.

Ключевые слова: остаточные количества пестицидов, тяжелые металлы, лук, фитотоксичность, экологическая оценка, загрязнение

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что сельскохозяйственное производство является одним из важных загрязнителей окружающей среды, которое неблагоприятно воздействует на природу и здоровье человека [1]. В сельском хозяйстве интенсивно используется большое количество ядохимикатов и удобрений. При невысокой культуре земледелия часть их попадает в подземные и поверхностные воды, загрязняет сельскохозяйственную продукцию, убивает живые организмы, нарушая равновесие в природной среде [2].

В настоящее время сельскохозяйственные угодья АПК занимают большие площади – более 60 % – при сравнительно небольшой урожайности возделываемых культур. Это много, если учесть, что, по рекомендациям экологов, площадь естественных ландшафтов должна составлять не более 30% [3]. При этом основная масса сельскохозяйственных угодий сосредоточена вдоль многочисленных автострад полуострова. Функционирование автодорог неизбежно сказывается на состоянии окружающей среды. В почвы попадают тяжёлые металлы из выхлопных труб автомобилей, воздушный бассейн загрязняется газообразными выбросами и шумами. Выявлено повышенное аккумулятивное накопление солей тяжелых металлов в почве придорожной обочины вдоль автострады, что является последствием большой интенсивности движения автотранспорта [4]. В выбросах автотранспорта содержится большое количество экотоксикантов, к числу наиболее значимых можно отнести оксиды углерода, углеводороды (канцерогенные бензопирены, формальдегид, бензол), оксиды азота, сажа, Pb, Ni, Cr, Cd, Cu и Zn, диоксид серы, альдегиды. Загрязнение распространяется на расстоянии 100–300 м от автомобильных дорог [3].

На наш взгляд, большой научный и практический интерес представляют экологические исследования, направленные на изучение фитотоксичности почвенных образцов сельскохозяйственных угодий, расположенных вдоль автострад, так как почва является основным приемником различных загрязнителей. По нашему мнению, данные почвы испытывают двойной техногенный стресс: регулярные обработки пестицидами и выбросы автотранспортных средств.

В связи с этим целью нашего исследования явилась экологическая и фитотоксическая оценка загрязнения сельскохозяйственных почв Крыма пестицидами и тяжелыми металлами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа были выбраны районы Крымского региона, с которых отбирались почвенные образцы сельскохозяйственных угодий, расположенных вдоль автострад с интенсивным движением автотранспорта. Нами проведено исследование почвенных образцов из следующих зон АПК: I – Бахчисарайский (с. Брянское), II – г. Алушта и III – Симферопольский (с. Кольчугино) районы, в которых возделываются виноградники. Почвенные образцы, несущие информацию об изучаемых территориях, для наилучшей оценки отбирались в случайно выбранных точках в пределах всей изучаемой площади [5]. Отбор осуществлялся с глубины 0–15 см на расстоянии 50 м от обочины. В почвенных образцах из указанных зон определяли содержание тяжелых металлов (ТМ) и остаточных количеств пестицидов (ОКП) методами газожидкостной и тонкослойной хроматографии [6, 7], атомно-абсорбционной спектрометрии и полярографии [8, 9].

Для экологической оценки загрязнения сельскохозяйственных почв тяжелыми металлами была использована закрытая 100-балльная шкала. Преимуществом данного метода является оценивание степени загрязнения при наличии нескольких загрязняющих веществ, влияние которых в комплексе может быть существенным, даже если концентрация каждого из них будет несколько ниже ПДК. Балл, характеризующий степень загрязнения почвы, рассчитывался на основе имеющейся информации о содержании в почве токсичных элементов и соединений, их фоновом значении, а также санитарно-гигиенических нормативах по формуле [10]:

$$D = \sum_{i=1}^N [(C_i / C_{i\text{фон}}) K_i], \quad (1)$$

где D – приведенный суммарный коэффициент концентрации; C_i – содержание элемента (тяжелый металл) в изучаемой почве, мг/кг; $C_{i\text{фон}}$ – фоновое содержание элемента, мг/кг; K_i – коэффициент значимости элементов и соединений, обратно пропорциональный ПДК (ОДК) – 1/ПДК.

Если районы исследований находятся вдали от источников техногенного загрязнения, то выявленные уровни содержания металлов следует считать фоновыми [11].

Если содержание элемента или соединения равно или ниже фонового, отношение $C_i / C_{i\text{фон}}$ принимается равным 1, формула принимает следующий вид:

$$D_{\text{фон}} = \sum_{i=1}^N K_i, \quad (2)$$

где $D_{\text{фон}}$ – приведенный суммарный коэффициент концентрации для фоновой почвы (оценочный балл равен 100).

$$B = D_{\text{фон}} \cdot 100 / D, \quad (3)$$

где $D_{\text{фон}}$ – приведенный суммарный коэффициент концентрации для фоновой почвы (оценочный балл равен 100).

Определение фитотоксичности почв, загрязненных ТМ и ОКП, проводили методом проростков [12], который основан на реакции тест-культур на содержание в почве различных загрязнителей и позволяет выявить токсичное (ингибирующее) действие различных поллютантов на проростки тест-культур. Для определения фитотоксичности почвенных образцов использовали тест-систему лука (*Allium cepa* L.), являющуюся классическим методом исследования токсического воздействия поллютантов на живые объекты. Allium-тест дает возможность изучить фитотоксичность на основе угнетения роста корней *Allium cepa* L. [13]. Установлено, что наиболее чувствительным показателем токсического воздействия загрязнителей окружающей среды на растения является ингибирование их корневого роста [14].

Фитотоксический эффект исследуемых почвенных образцов – ФЭ (%) по показателям длины корешков тест-растения рассчитывали по формуле Лозановской И.Н., Орлова Д.С. и др. [12]:

$$\text{ФЭ} = \frac{L_0 - L_x}{L_0} \cdot 100, \quad (4)$$

где L_0 – средняя длина корешка контрольного растения; L_x – средняя длина корешка растения, выращенного на фитотоксической среде.

Для анализа семена лука без предварительного проращивания высевали в кюветы с исследуемыми почвами для того, чтобы корни развивались в условиях уже существующего загрязнения почв ТМ и ОКП. Проращивание корней проводили в темноте при температуре +22⁰С и постоянной влажности. Для определения влажности почв, используемых для проращивания семян тест-культуры, использовали весовой метод [15]. На третьи сутки проросшие семена лука подвергали морфометрическому анализу.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Microsoft Excel 2000”. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены результаты проведенных исследований, свидетельствующие о том, что содержание практически всех тяжелых металлов в почвах находится в пределах значительно превышающих установленные санитарно-гигиенические нормативы. Остаточные количества пестицидов обнаружены в очень малых количествах.

Анализируя полученные данные, можно прийти к заключению, что в исследованных почвенных образцах содержание остаточных количеств пестицидов – в пределах нормы. Так, в г. Алуште остаточные количества Байлетона и Инсегара в 3 раза ниже ПДК, БИ-58 – в 6 раз ниже установленной нормы. Аналогичная тенденция наблюдается и в районах. В Бахчисарайском районе содержание Байлетона в 6 раз ниже нормы, БИ-58 и Инсегара – в 10 раз ниже. И на последнем месте по изученным пестицидам находится Симферопольский район, где обнаружены лишь незначительные следы пестицидов (БИ-58, Инсегар).

Таблица 1.
Содержание остаточных количеств пестицидов и тяжелых металлов в почвах городов и районов Крыма ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Вариант	Обнаруженные количества экотоксикантов, мг/кг					
	остаточные количества пестицидов			тяжелые металлы		
	Байлетон	БИ-58	Инсегар	Pb	Cu	Zn
I	0,005 ±	0,03 ±	0,003 ±	34,0 ±	3,0 ±	18,0 ±
	0,0003	0,004	0,0004	0,81	0,37	0,62
II	0,01 ±	0,05 ±	0,01 ±	63,0 ±	3,4 ±	20,0 ±
	0,002	0,002	0,004	2,00	0,22	0,50
III	–	0,01 ±	0,002 ±	80,2 ±	12,1 ±	18,5 ±
		0,002	0,0007	1,71	0,33	0,56
ПДК	0,03	0,3	0,03	32,0	3,0	23,0

Примечание: превышение ПДК

По содержанию остаточных количеств пестицидов в почвах, изученные объекты расположились в следующей последовательности: Алушта > Бахчисарайский район > Симферопольский район.

Однако, как свидетельствуют литературные данные, малое количество обнаруженных остатков ксенобиотиков может оказывать неблагоприятное воздействие на объекты окружающей среды [17]. Таким образом, при регулярном применении химических средств защиты растений происходит загрязнение сельскохозяйственных почв их остатками. Наше предположение согласуется с данными, полученными Гурским И.Д. [18], установившим, что ежегодное применение симазина в дозах до 8 кг/га приводило к постепенному его накоплению в почве и последующей миграции в возделываемые культуры.

Следовательно, при многолетнем использовании пестицидов, происходит хроническое загрязнение почв остаточными количествами, что может привести к

неблагоприятным экологическим последствиям – загрязнению сельскохозяйственной продукции и объектов окружающей среды.

Менее благополучная обстановка наблюдается с загрязненностью почвенных угодий изученных районов тяжелыми металлами. В г. Алуште содержание меди в 1,1 раза выше ПДК, в то время как содержание свинца превышает установленные санитарно-гигиенические нормы в 2 раза. Содержание Zn – в 1,1 раза ниже ПДК. В Бахчисарайском районе содержание меди регистрируется на уровне ПДК, содержание цинка – в пределах нормы (в 1,3 раза ниже ПДК), количество свинца превышает ПДК в 1,1 раза. Тревогу вызывают данные, полученные в Симферопольском районе, где обнаружено превышение содержания свинца в почве в 2,5 раза выше установленных санитарно-гигиенических норм. Содержание цинка – в пределах нормы, а по содержанию меди превышает установленные нормативы ПДК в 4 раза.

Таким образом, в изученных районах наблюдается прогрессирующее накопление в почвах тяжелых металлов, содержание которых приближается или даже превышает ПДК в несколько раз. Установлено, что загрязнение почв тяжелыми металлами является очень устойчивым фактором. Так виноград сорта Riesling выращивали в почвах, загрязненных тяжелыми металлами. Вымывание тяжелых металлов из почвы было очень незначительным как при орошении, так и без орошения. Пик содержания подвижных тяжелых металлов наблюдался сразу после внесения и, только спустя 500 дней, их содержание было на уровне контроля [19]. Таким образом, в сельскохозяйственных почвах придорожной зоны автострад формируются полосы устойчивого загрязнения тяжелыми металлами.

Параллельно нами была проведена оценка степени экологического загрязнения исследованных земельных угодий тяжелыми металлами, а также проведено их ранжирование по закрытой 100-балльной шкале оценивания степени загрязнения токсичными элементами. В результате проведенных расчетов на основе имеющейся информации о содержании в анализируемых почвах токсичных элементов, их фоновом значении и санитарно-гигиенических нормах, предъявляемых к данным соединениям, был установлен оценочный балл экологического загрязнения почв (табл. 2).

Таблица 2.

Содержание тяжелых металлов в почвах и экологическая (баллы) оценка степени загрязнения

№	Вариант	Pb	Cu	Zn	$\sum D_i$	Балл, %
1.	Бахчисарайский район	34,0	3,0	18,0	0,5	85,1
2.	Алушта	63,0	3,4	20,0	0,8	48,7
3.	Симферопольский район	80,2	12,1	18,5	1,2	32
4.	$C_{фон}$	3,0	9,5	11,2	1,0	100
5.	K_i	0,03	0,33	0,04	0,4	–

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ И ФИТОТОКСИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Установлено, что самый низкий оценочный балл – 32% – в Симферопольском районе (с. Кольчугино). По степени экологического загрязнения изученных почв, исследованные районы расположились в следующей последовательности: Симферопольский район > Алушта > Бахчисарайский район.

Полученные данные свидетельствуют, что в сельскохозяйственных угодьях, расположенных вдоль автотрасс наблюдается прогрессирующее накопление и загрязнение почв тяжелыми металлами. Данное обстоятельство вызывает тревогу, так как различные экотоксиканты могут вступать друг с другом во взаимодействие и образовывать более токсичные для объектов окружающей среды комплексы, создающие дополнительный мутагенный фон [20, 21]. В связи с этим для более детального изучения совместного действия ТМ и ОКП необходимо проводить и фитотоксический анализ влияния исследуемых почв на тест-растения.

Результаты проведенных исследований показали, что почвы, загрязненные ТМ и ОКП, оказывают негативное влияние на процесс элонгации корешков *Allium cepa* L., проявляющийся в ингибировании их роста (табл. 3).

Таблица 3.

Показатели фитотоксичности комплексного воздействия тяжелых металлов и остаточных количеств пестицидов в почвах на процессы роста корешков *Allium cepa* L.

№	Вариант	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	M_o	$\Delta M_o, \%$	t_{ϕ}	$\Phi \Delta, \%$	EC_{10-90}
1.	Контроль	1,31 ± 0,017	1,5	–	–	–	–
2.	Фон (ТМ)	1,23 ± 0,015	1,2	20,00	–	6,50	–
3.	I (ТМ+ОКП)	1,12 ± 0,021*	1,2	20,00	4,26*	14,50	EC_{10}
4.	II (ТМ+ОКП)	0,92 ± 0,015*	1,0	33,33	14,62*	29,77	EC_{50}
5.	III (ТМ+ОКП)	0,74 ± 0,017*	0,8	46,66	21,68*	43,51	EC_{50}

Примечание. Отличия от контроля достоверны при * – $p < 0,001$; ΔM_o – инкремент моды (превышение значения моды в контрольном варианте над наблюдаемым в опыте); t_{ϕ} – отличия опытных вариантов от фона; ТМ – тяжелые металлы; ОКП – остаточные количества пестицидов

Морфологический анализ проростков, выращенных в почвах зоны II и III, позволил выявить слабое потемнение меристематических участков корней, переходящих у некоторых проростков в коричневые кончики корней, что, по-видимому, является последствием некроза клеток корневой меристемы [13].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что почвы, загрязненные экотоксикантами, оказывают ингибирующее действие на ростовые

процессы, протекающие в клетках корневой меристемы *Allium cepa* L. Так, в почвах контрольного варианта опыта, не содержащих экотоксикантов, средняя длина корней достигала 1,3 см. В фоновых почвах наблюдалось некоторое снижение данного показателя ($p > 0,05$). В Бахчисарайском районе (с. Брянское) регистрируется снижение длины корешков – в 1,16 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольным вариантом и в 1,1 раза ($p < 0,001$) по сравнению с фоном. Однако при более высоких показателях загрязнения почв поллютантами, наблюдалось уменьшение длины корешков *Allium cepa* L. в зоне 2 в 1,42 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и в 1,33 раза ($p < 0,001$) по сравнению с фоном. В Симферопольском районе (с. Кольчугино) регистрируется уменьшение вышеназванных показателей в 1,77 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольным вариантом и в 1,66 раза ($p < 0,001$) по сравнению с фоном (рис. 1).

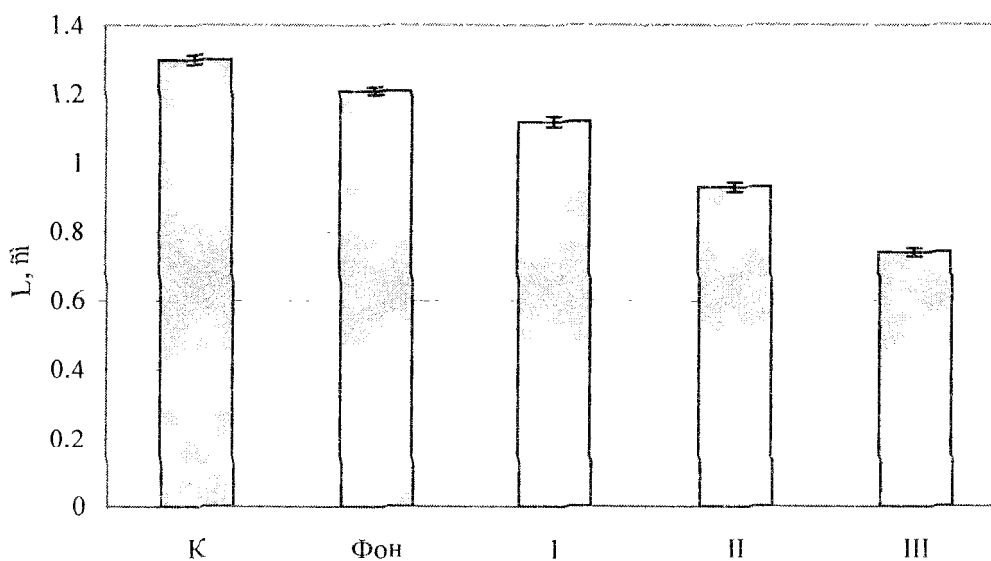


Рис. 1. Сравнительные показатели длины корешков *Allium cepa* L., выращенных на субстратах, загрязненных тяжелыми металлами и остаточными количествами пестицидов и в контроле

В литературе имеются сведения, что не всегда среднее арифметическое является надежной статистической оценкой и корректные оценки степени ингибирования роста корней могут быть получены на основе сравнения значений моды [22]. В связи с этим нами были вычислены показатели моды (M_o) по каждому варианту исследования. Произведенные расчеты позволили выявить незначительные отличия по сравнению с величиной средней арифметической. Инкремент моды для опытных вариантов вычисляли по степени ингибирования роста корней.

Проведенное вычисление показателя $\Phi Э$ по всем вариантам исследования, дало следующие результаты (табл. 3). В фоновых образцах отмечалось 6%-ное ингибирование роста корней по сравнению с контролем. В Бахчисарайском районе – 14,5%-ное ингибирование ростовых процессов, в Алуште – 30%-ное и в Симферопольском районе – 43,5%-ное ингибирование. Нами было проведено ранжирование полученных данных по следующей классификации: инициальное (слаботоксичное), эффективное (среднетоксичное) и сублетальное (высокотоксичное) содержание токсических концентраций поллютантов в изученных почвенных образцах – соответственно EC_{10} , EC_{50} и EC_{90} , при которых наблюдалось ингибирование прироста корней тест-растения на 10, 50 и 90% по сравнению с контролем [13, 22]. Следовательно, в фоновых почвах (ТМ) экотоксиканты по своему влиянию не превышают статистически достоверного уровня по сравнению с контролем, в Бахчисарайском районе (ТМ+ОКП) регистрируется слаботоксичное действие, в г. Алуште и Симферопольском районе (ТМ+ОКП) отмечается эффективное или среднетоксичное действие поллютантов на рост корней лука соответственно по сравнению с контрольным вариантом. Полученные данные позволяют прийти к заключению, что почвы загрязненные ТМ и ОКП, оказывают более выраженное ингибирующее действие на рост корешков *Allium cepa* L., что, по-видимому, является последствием их совместного неблагоприятного воздействия на процесс элонгации корешков.

Полученные данные подтверждают необходимость проведения агроэкологического мониторинга с целью предупреждения возможных негативных последствий антропогенной деятельности на окружающую среду. На наш взгляд, неоспоримым фактом является необходимость проведения цитогенетических исследований по изучению влияния экотоксикантов на культурные растения, произрастающие в условиях экологического стресса и испытывающие различную степень антропогенной нагрузки. Дальнейшие наши исследования будут направлены на изучение последствий загрязнения сельскохозяйственных почв на возделываемые культуры и определение степени цитогенетического риска для них различных экотоксикантов.

ВЫВОДЫ

1. В сельскохозяйственных угодьях, расположенных вдоль автострад, обнаружены остаточные количества пестицидов (Байлетон, БИ-58, Инсегар) в незначительных количествах (>ПДК) и тяжелые металлы (свинец, медь, цинк), превышающие санитарно-гигиенические нормы (Алушта, Бахчисарайский и Симферопольский районы – свинец и медь).
2. Рассчитан показатель экологической оценки загрязнения исследованных зон по 100-балльной закрытой шкале оценивания. Установлено, что самым загрязненным экотоксикантами районом является Симферопольский (с. Кольчугино). Показатель экологического загрязнения в Бахчисарайском районе приближен к фоновому.

3. Почвы, загрязненные остаточными количествами пестицидов и тяжелыми металлами, оказывают комплексный фитотоксический эффект, проявляющийся в ингибировании ростовых процессов корешков *Allium cepa* L.
4. При агроэкологическом мониторинге различных экотоксикантов в почвах сельскохозяйственных угодий необходимо наряду с традиционными методами их определения использовать методы цитогенетического анализа возделываемых культур, учитывающие мутагенный эффект экотоксикантов.

Список литературы

1. Rapport d'evaluation sur la gestion et el bilan du programme de maitrise des pollutions d'origine agricole // Amenag. et nature. – 2000. – № 136. – P. 58–73.
2. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология). Коллектив авторов, под ред. акад. АМН СССР Медведя Л.И. – К.: «Урожай», 1997. – 376 с.
3. География Крыма: Учеб. пособие для учащихся общеобразоват. учеб. заведений / Баргова Л. А., Боков В. А., Баргов Н. В. – К.: Лыбидь, 2001. – 304 с. Rapport d' evaluation sur la gestion et el bilan du programme de maitrise des pollutions d'origine agricole // Amenag. et nature. – 2000. – № 136. – С. 58-73.
4. Moslehuddin A. Z., Laizoo S., Fgashira K. Heavy metal pollution of soils along three major highways in Bangladesh //J. Fac. Agr. / Kyushu Univ. – 1998. – V. 42. – № 3–4. – P. 503-508.
5. Николаенко А.В. Характеристика единичных почв при различных способах апробирования // Междунар. конф. студ. и аспирантов по фундам. наукам «Ломоносов–96», Москва, 1996: Тез. докл.: Почвоведение. – М., 1996. – С. 61.
6. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде, 1991. – Сборник № 22. – Ч. 1. – С. 152.
7. Справочник: методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. – М.: «Колос», 1992. – Т. 1. – С. 136, 468.
8. Предельно-допустимые концентрации химических веществ в почве, 1979. Полярнографический метод определения свинца. – С. 4.
9. Предельно-допустимые концентрации химических веществ в почве, 1985. Атомно-абсорбционный метод определения меди и цинка. – С. 20.
10. Титова В.И., Дабахов М.В., Дабахова Е.В. Некоторые подходы к экологической оценке загрязнения земельных угодий // Почвоведение. – 2004. – № 10. – С. 1264-1267.
11. Alexeeva-Popova N.V., Igoshina T.I., Drosdova I.V. Metal distribution in the Arctic ecosystem of the Chukotka Peninsula, Russia: {Pap.} Int. Symp. "Ecol. Eff. Arctic Airborne Contam.", Rejkjavik, 4-8 Oct., 1993 // Sci. Total Environ. – 1995. – Vol. 160-161, № 1-3. – P. 643-652.
12. Лозановская И.Н., Орлов Д.С., Садовникова Л.К. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении. – М.: Высш. шк. – 1998. – 287 с.
13. Довгалюк А.И., Калиняк Т.Б., Блюм Я.Б. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука // Цитол. и генетика. – 2001. – № 1. – Т. 35. – С. 3-9.
14. Fiskcsj G. Allium test // Methods in Molecular Biology – 43. In Vitro Toxicity Testing Protocols / Ed. S. O'Hare and C. K. Atterwill – Totowa, NJ: Copyright Humana Press Inc. – 1995. – P. 119-127.
15. Чернавина И.А., Потапов Н.Г., Косулина Л.Г., Кренделева Т.Е. Большой практикум по физиологии растений. Минеральное питание. Физиология клетки. Рост и развитие: Учеб. пособие для студентов биол. спец. вузов. / Под ред. Б.А. Рубина. – М.: Высш. школа, 1978. – 408 с.
16. Плохинский Н. А. Биометрия. Изд-во Московского ун-та, 1970. – 367 с.
17. Кочетков И. А., Лазарева И. О. Влияние некоторых загрязнителей на показатели биологической активности почвы // Вопр. экол. и охраны природы в лесостеп. и степ. зонах / Самар. гос. ун-т. – Самара, 1999. – С. 160-165.
18. Гурский И.Д. Изучение остаточного количества симазина в почве, листьях и урожае некоторых многолетних культур. Автореф. дис... канд. биол. наук. – Одесса, 1975. – 24 с.

ЕКОЛОГІЧЕСЬКА І ФІТОТОКСИЧЕСЬКА ОЦІНКА ЗАГРЯЗНЕННЯ

19. Track C., Fuchs B., Lang S., Gimmler H. Environmental compatibility of municipal solid waste incinerator bottom slag: Evidence from long time lysimeter experiments with *Vitis vinifera* // *Angew. Bot.* – 1998. – Vol. 72. – № 1-2. – P. 14–24.
20. Куринный А.И. Индикация загрязнения окружающей среды пестицидами и мутагенами по их гаметоцидному действию на растений // *Цитология и генетика.* 1988. – № 4. – С. 32–35.
21. Ладонин В.Ф., Алиев А.М. Экологические аспекты длительного применения удобрений в комплексе с пестицидами // *Агрохимия.* – 1999. – № 4. – С.75-80.
22. Евсеева Т.И., Майстренко Т.А., Гераськин С.А., Белых Е.С., Казакова Е.В. Токсические и цитогенетические эффекты, индуцируемые у *Allium cepa* низкими концентрациями Cd и ²³²Th // *Цитология и генетика.* – 2005. – № 5. – С. 73-80.

Ібрагімова Е.Е. Екологічна і фітотоксична оцінка забруднення сільськогосподарських ґрунтів Крима пестицидами та важкими металами // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 16-25.

Анотація: В сільськогосподарських ґрунтах, розташованих вздовж автострад, виявлені залишкові кількості пестицидів (Байлетон, БІ-58, Інсеґар) в незначних кількостях і важкі метали (свинець, мідь, цинк). Ґрунти забруднені залишковими кількостями пестицидів та важкими металами, оказують комплексний фітотоксичний ефект, який виявляється в інгибуванні ростових процесів корінців *Allium cepa* L.

Ключове слова: залишкові кількості пестицидів, важкі метали, цибуля, фітотоксичність, екологічна оцінка, забруднення

Ibragimova E.E. Ecologic and phytotoxic assessment of pollution of agricultural soils of Crimea by pesticides and heavy metals // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 16-25.

Summary: Residual quantities of pesticides (Buyleton, Insegar, Phosphamid) at insignificant quantities and heavy metals (lead, copper, zinc) are found in agricultural fields, located along motorways, there. Ground polluted by residual quantities of pesticides and heavy metals exert influence on complex effect shown in inhibit growth processes of the root of *Allium cepa* L.

Keywords: residual quantities of pesticides, heavy metals, onion, phytotoxic, ecologic assessment, pollution

Поступила в редакцію 15.07.2007 г.

УДК 581.632.121

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ПРОТОННОЙ АТФазы В РАСТЕНИЯХ КУКУРУЗЫ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Кабузенко С.Н., Кузнецова Н.Н., Омельченко А.В.

На проростках кукурузы параллельно изучали активность фермента протонной H^+ -АТФазы, играющего ключевую роль при адаптации растений к солевому стрессу, содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и восстановительную активность тканей и выделенных хлоропластов. Установлена положительная взаимозависимость в изменении указанных показателей при солевом стрессе. Делается вывод, что усиление ПОЛ в данных условиях можно рассматривать как проявление адаптивной реакции на действие стресса, обеспечивающей активацию H^+ -АТФазы, которая участвует в выведении из клеток «засоляющих» катионов Na^+ .

Ключевые слова: кукуруза, восстановительная активность тканей, дегидрогеназы, H^+ -АТФаза, перекисное окисление липидов (ПОЛ).

ВВЕДЕНИЕ

Изучение механизмов адаптации культурных растений к солевому стрессу на сегодня остается актуальным в силу распространения почвенного засоления во многих странах мира, связанного с изменением климатических условий и хозяйственной деятельностью человека. Ответной реакцией растений на высокое содержание солей в почве является поддержание в клетках ионного гомеостаза, в частности, определенной концентрации катионов натрия, позволяющей в данных условиях осуществлять продукционный процесс и ростовые функции.

Ключевую роль в ионном гомеостатировании цитоплазмы клеток растений-гликофитов играет протонная H^+ -АТФаза, в то время как у галофитов обнаружена Na^+ -транспортирующая Na^+ -АТФаза, которая отличается от протонной по ряду параметров [1]. H^+ -АТФаза участвует в создании мембранного протонного градиента, который используется для выведения из клеток «избыточного» натрия с помощью Na^+/H^+ -антипортера, локализованного на плазмалемме и тонопласте растительных клеток [2]. Этот механизм считается универсальным для растений гликофитного типа, и многими исследователями отмечено повышение активности протонной АТФазы в условиях засоления [3, 4]. Однако причины этой активации в литературе трактуются по-разному. Так, ряд исследователей отмечали активацию протонной АТФазы катионами и анионами солей (до определенных пределов концентрации), которая наблюдалась только в составе мембраны, т.е. в нативном состоянии фермента [3, 5 – 7]. Накамура [8] наблюдал усиление гидролитической активности H^+ -АТФазы в плазмалемме клеток корней бобов в присутствии 100 мМ $NaCl$. В клетках корней галофита *Salicornia* активация происходила при более

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ПРОТОННОЙ АТФАЗЫ

высокой концентрации хлорида натрия – 200 мМ. Авторы объясняют повышение активности фермента под действием соли посттрансляционными изменениями молекулы белка, по-видимому, усиливающими его сродство к субстрату. В литературе высказывается мнение, что для H^+ -АТФазы, которая относится к мембранным ферментам, возможны четыре способа регуляции активности: генная, ковалентная, аллостерическая и липидная [9].

В некоторых работах отмечена связь активности H^+ -АТФазы с консистенцией липидного матрикса клеточных мембран растений, с липидным составом мембран и характером взаимодействия фермента с липидами. Изменение этих параметров изучалось на фоне действия температурных стрессов и установлена прямая зависимость между активностью H^+ -АТФазы и ПОЛ (перекисным окислением липидов), которое рассматривается как неспецифическая реакция растений на любое стрессовое воздействие [10, 11]. Однако в доступной нам литературе мы не встречали работ, посвященных изучению ПОЛ в условиях засоления, устанавливающих связь этого явления с активацией H^+ -АТФазы. Мы предположили, что одной из причин повышения активности H^+ -АТФазы в условиях засоления может являться ПОЛ, которое значительно влияет на свойства липидного слоя мембран и изменяет характер взаимодействия белков с липидами.

Поэтому целью настоящего исследования явилось параллельное изучение активности H^+ -АТФазы и содержания продуктов ПОЛ растений кукурузы на фоне хлоридного засоления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служили проростки кукурузы сорта Одесская 10 на начальных этапах развития, выращенные в условиях почвенной культуры в лаборатории физиологии растений биологического факультета ТНУ. Контрольные растения выращивали на лугово-черноземной почве, взятой в долине р. Салгир. В опытные сосуды вносили с поливной водой поваренную соль в концентрации 100 мМ.

В органах 3-14 дневных проростков кукурузы определяли активность H^+ -АТФазы методом Полевого и Танкелюн [12], общую восстановительную активность тканей по Касумову [13], дегидрогеназную активность [14], содержание продуктов ПОЛ по методу Гаврилова и Мишкорудной [15].

Эксперименты проводили в трехкратной биологической и аналитической повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований установлено, что гидролитическая активность фермента H^+ -АТФазы в корневых окончаниях 4- дневных проростков кукурузы увеличивалась на 24,2% против контроля (табл. 1).

В работах, проведенных нами в предыдущие годы было установлено, что повышение активности H^+ -АТФазы под влиянием засоления прямо коррелирует с солеустойчивостью культуры [4, 16]. Как следует из данных таблицы 1,

концентрация хлорида натрия 200 мМ повышала активность фермента Н⁺-АТФазы в корнях кукурузы всего на 4,2 % против контроля.

Таблица 1.

Гидролитическая активность фермента Н⁺-АТФазы в корневых окончаниях 4х-дневных проростков кукурузы сорта Одесская 10, выращенных на фоне хлоридного засоления ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Варианты опыта	количество фосфора неорганического, отщеплённого Н ⁺ -АТФазой за 1 час при t=37 ⁰ С	
	мкг на 0,5 г сырых корней	% отношение к контролю
контроль (Н ₂ О)	130,9±0,6	100,0
100мМ NaCl	162,6±1,1	124,2
200мМ NaCl	136,5±0,1	104,2

Одновременно с повышением активности Н⁺-АТФазы в клетках корня нами отмечено на солевом фоне увеличение содержания катионов Na⁺ [4, 16], но мы не связываем активацию фермента с прямым действием ионов на белок, т.к. в литературе имеются данные о стимуляции одновалентными катионами Н⁺-АТФазы только в составе мембран [3, 6].

Поскольку основным механизмом, участвующим в выведении из клеток корня кукурузы «избыточного» Na⁺ считается Na⁺/H⁺-антипортер [2, 3, 10], работа этого механизма должна способствовать изменению редокс-статуса клеточных органоидов и растительных тканей в целом, что побудило нас определить влияние соли на восстановительную активность клеток корня, листа и выделенных хлоропластов (табл. 2).

Таблица 2.

Восстановительная активность тканей листа, корня и выделенных хлоропластов растений кукурузы сорта одесская 10 ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Вариант опыта/ объект исследований	Восстановительная активность в динамике опыта, отн.ед.		
	3 сутки	7 сутки	14 сутки
Контроль			
Корни	0,008±0,0002	0,008±0,0002	0,012±0,0003
Листья	0,010±0,0003	0,015±0,0004	0,017±0,0004
Хлоропласты			0,015±0,0004
Опыт (NaCl 100 мМ)			
корни	0,005±0,0001	0,021±0,0006	0,011±0,0003
листья	0,017±0,0004	0,010±0,0003	0,018±0,0004
хлоропласты			0,010±0,0003

Как следует из данных таблицы 2, в тканях корней и листьев растений контрольного варианта в динамике опыта наблюдалось повышение восстановительной активности.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ПРОТОННОЙ АТФАЗЫ

В корнях растений опытного варианта восстановительная активность резко возрастала на 7 сутки, чему предшествовала активация ферментов дегидрогеназ (рис.).

Восстановительная активность хлоропластов на солевом фоне снижалась, что свидетельствует о негативном влиянии хлорида натрия на работу электронтранспортной цепи хлоропластов. По-видимому, ионная обстановка в клетках корней опытного варианта способствовала усиленному образованию восстановленных форм НАДФ·Н, которые активируют ферменты НАДФ·Н-зависимые оксигеназы, индуцирующие перекисное окисление липидов.

Перекисное окисление липидов может происходить и в нормальных условиях, но протекает с небольшой скоростью из-за наличия антиоксидантных систем [17].

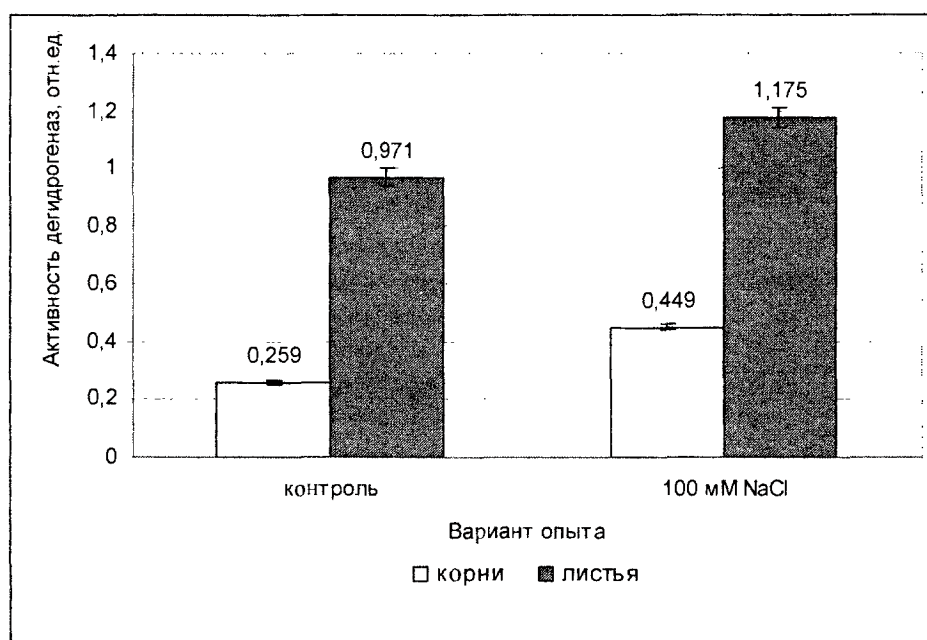


Рис. Активность дегидрогеназ 3-х дневных проростков кукурузы сорта Одесская 10 в условиях хлоридного засоления.

Доступным субстратом для окислительных процессов являются мембранные липиды, которые содержат большое количество ненасыщенных жирных кислот. Этот процесс может влиять на состояние мембран, изменяя их физико-химические свойства. Накопление продуктов ПОЛ увеличивает подвижность липидного бислоя, нарушает пространственное положение и структуру белковых молекул. Одним из ответов растительной клетки на неблагоприятное воздействие среды является активация процессов, которые препятствуют развитию ПОЛ [18].

В наших исследованиях под действием хлорида натрия наблюдалось увеличение содержания диеновых конъюгатов в клетках корня уже на третий день действия солевого стресса. Одновременно повышалось содержание триенов и

кетонов, которые так же являются продуктами свободно-радикального окисления липидов (табл. 3).

Таблица 3.
Содержание гидроперекисей в клетках корней кукурузы на фоне солевого стресса, относительные единицы ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Вариант опыта	Диены	Триены	Кетоны
Контроль (бессолевой фон)	0,72 ± 0,021	1,0 ± 0,036	1,04 ± 0,035
NaCl, 100 мМ	1,22 ± 0,037	1,18 ± 0,035	1,18 ± 0,034

Как следует из данных таблицы 3, под действием засоления достоверно возросло содержание диеновых конъюгатов, наиболее влияющее на ригидность мембран. В литературе высказывается мнение, что процессы липопероксидации можно рассматривать как фактор, который оказывает регулирующее действие на активность H^+ -АТФазы при неблагоприятных воздействиях [10].

В основе такого действия могут лежать: 1) нарушение характера взаимодействия фермента с липидами мембран; 2) прямое окисление мембранных белков; 3) нарушение проницаемости липидного бислоя.

Перестройка в липидном окружении увеличивает подвижность мембранных белков, изменяет кинетические свойства и активность мембранных ферментов, что может играть позитивную роль в адаптации растений к стрессовым факторам [19].

ВЫВОДЫ

1. Интенсификация перекисного окисления липидов может являться одной из причин повышения активности H^+ -АТФазы плазмалеммы растительных клеток в условиях солевого стресса, направленной на поддержание ионного гомеостаза на фоне токсического действия солей.
2. Неспецифические ответные реакции растений на действие стресса включают несколько взаимосвязанных механизмов, и способность растений к адаптации определяется согласованностью между отдельными элементами системы в данных условиях.

Список литературы

1. Стриж И.Г., Попова Л.Г., Балконин Ю.В. Физиологические аспекты адаптации морской микроводоросли *Tetraselmis (Platymonas) viridis* к различной солености среды // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, № 2. – С. 197–204.
2. Пагис Л.Я., Попова Л.Г., Андреев И.М., Балконин Ю.В. Ионная специфичность Na^+ -транспортирующих систем в плазматической мембране галотолерантной водоросли *Tetraselmis (Platymonas) viridis* Rouch. // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №3. – С. 334–340.
3. Палладина Г.А. Роль протонных насосов плазмалеммы и тонопласта в устойчивости растений к солевому стрессу // Успехи современной биологии. – 1999. – Т. 119, № 5. – С. 451–461.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ПРОТОННОЙ АТФАЗЫ

4. Кабузенко С.Н., Омельченко А.В. Динамика накопления активного натрия в проростках растений кукурузы, отличающихся по степени солеустойчивости // Ученые записки ТНУ. Серия «Биология, химия». – 2006. – Т.19 (58), №1. – С. 50–56.
5. Достанова Р.Х., Клышев Л.К., Мукажанова К.С. Влияние засоления среды на локализацию катионов Na^+ , K^+ и АТФазную активность в корнях гороха и кукурузы // Изв. АН КазССР. Серия «Биология», – 1980. – Вып. 3. – С. 29–36.
6. Плеханова Л.С., Ивлева Л.Б., Ибрагимова Э.А. Влияние засоления на активность АТФазы плазматических мембран и растворимой глицерофосфатазы хлопчатника // Материалы IV Всесоюзного симпозиума по солеустойчивости растений. Ташкент: ФАН. – 1986. – С. 70.
7. Мукажанова С.К., Клышев Л.К. Изучение действия солей на активность Mg^{2+} -зависимой, K^+ -стимулируемой АТФазы // Материалы IV Всесоюзного симпозиума по солеустойчивости растений. Ташкент: ФАН. – 1986. – С. 73.
8. Nacamura Y., Kasamo K., Shimosato N., Sakata M., Ohta E. Stimulation of the extrusion of protons and H^+ -ATPase activities with the decline in pyrophosphatase activity of the tonoplast in intact mung bean roots under high- NaCl stress and its relation to external levels of Ca^{2+} ions // Plant and Cell Physiology, 1992. – Vol. 33, No. 2.–, P. 139–149.
9. Sussman, M.R. and Surowy, T.K. Physiology and molecular biology of membrane ATPases // Oxford Surveys of Plant Molecular and Cellular Biology. –1987. – V. 4, P. 47–71.
10. Опригов В.А., Худяков В.А., Пятыхин С.С. О роли жидкостности липидного матрикса плазмалеммы клеток высшего растения в модуляции активности H^+ -АТФазы при различных формах умеренного холодового воздействия // Физиология растений. – 1992. – Т. 39, Вып. 3. – С. 533–540.
11. Веселов А.П., Курганова Л.Н., Лихачев А.В., Сушкова У.А. Возможное регуляторное влияние перекисного окисления липидов на активность H^+ -АТФазы плазмалеммы в условиях стресса // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 3. – С. 385–389.
12. Танкелюн О.В., Полевой В.В. Изучение мембранных АТФаз колеоптилей кукурузы // Физиология и биохимия культурных растений. – 1981. – Т. 13, № 2. – С. 180–185.
13. Касумов Н.А. О нарушении стационарного состояния внутриклеточного метаболизма растений при неблагоприятных условиях // ДАН Азербайджан. ССР, 1971. – Т. XXVII, № 4. – С. 48–51.
14. Плешков В.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос. 1985. – 216 с.
15. Гаврилов В.В., Мешкорудная М.Н. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело, 1983. – № 3. – С. 3–35.
16. Кабузенко С.Н., Омельченко А.В. Накопление активного натрия в органах культурных растений и стратегия их адаптации к засолению // Вісник Луганського ДУ. – Біологічні науки. 2002. – №5 (49). – С. 84–89
17. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. – 1985. – Т. 54, № 9. – С. 1540–1550.
18. Болдырев А.А. Введение в биомембранологию. – М.: Изд-во МГУ, 1990. – 144 с.
19. Шибарова А.Н. Анализ влияния малых доз ионизирующей радиации на протонную проницаемость и активность H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток высшего растения // Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.12. – Нижний Новгород. 2006. – 20 с.

*Кабузенко С.М., Кузнецова Н.М., Омельченко О.В. **Можливі механізми активації протонної АТФази в рослинах кукурудзи при сольовому стресі** // // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С.26-32.*

На проростках кукурудзи паралельно вивчали активність ферменту протонної H^+ -АТФази, яка грає ключову роль при адаптації рослин до сольового стресу, вміст продуктів перекисного окислювання ліпідів (ПОЛ) і відновлюючи активність тканин і виділених хлоропластів. Установлено позитивну взаємозалежність у зміні зазначених показників при сольовому стресі. Робиться висновок, що посилення ПОЛ у даних умовах можна розглядати як прояв адаптивної реакції на дію стресу, що забезпечує активацію H^+ -АТФази, яка бере участь у виведенні з клітин «засолоючих» катіонів Na^+ .

Ключові слова: кукурудза, відновлююча активність тканин, дегідрогенази, H⁺-АТФаза, перекісне окислювання ліпідів.

Kabuzenko S.N., Kuznetsova N.N., Omelchenko A.V. Suggested mechanisms of protonic ATPase activation in maize plants under salt stress // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 26-32.

Protonic ATPase enzyme activity, which plays the key role in adaptation of plants to salt stress, content of products of peroxide oxidation of lipid (POL) and reducing activity of tissues and extracted chloroplasts were parallel studied on maize seedlings. Positive interdependence can be observed when the above-mentioned properties are changed under conditions of salt stress. It can be concluded that intensification of POL under the given conditions can be considered as display of adaptive stress reaction ensuring activation of ATPase that takes part in removal of causing salinization Na⁺ kations from cells.

Keywords: maize, reducing activity of tissues, dehydrogenases, H⁺-ATPase, peroxide oxidation of lipid.

Поступила в редакцію 05.10.2007 г.

УДК 615.214.547.78

ВПЛИВ ОДОРАЦІЇ ПРИЄМНИМИ ТА НЕПРИЄМНИМИ ЗАПАХАМИ НА ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ ЧОЛОВІКІВ І ЖІНОК

Кравченко В.І., Макарчук М.Ю., Турта О.І.

В статті обговорюються можливі механізми впливу запахів на нейродинамічні та когнітивні функції осіб різної статі.

Ключові слова: суб'єктивна оцінка запаху, латентні періоди реакцій, швидкість протікання нервових процесів, короткочасна пам'ять, статі

ВВЕДЕНИЕ

Одним з можливих механізмів впливу запахових подразників на когнітивні та нейродинамічні мозкові процеси є гедонічна оцінка запахів людиною. Відомо, що серед інших сенсорних стимулів запахи є найбільш пов'язаними з емоціями, що зумовлено нейроанатомічними особливостями нюхового аналізатора, а саме прямими зв'язками із структурами лімбічної системи. Суб'єктивне відношення до запаху людини може бути одним з „ключів” до розгадки неоднозначних ефектів, що викликають одні й ті ж запахові речовини у різних людей. Важливість емоційно забарвленого сприйняття запахів продемонстровано рядом робіт, в яких описуються різні патерни зміни вегетативних [1], електрофізіологічних показників [2, 3], залучення різних структур головного мозку [4, 5] у відповідь на одорацію суб'єктивно приємними і неприємними запахами. Відомо, що у осіб різної статі сприйняття запахів певною мірою відрізняється, що в першу чергу зумовлено статевими морфологічними та нейрохімічними відмінностями структур лімбічної системи, що задіяні в обробку запахової інформації. За даними робіт із використанням методів візуалізації роботи головного мозку [6], експозиція як чисто ольфактивних, так і тригемінальних подразників, зумовлює патерн активації головного мозку, ідентичний як для жінок, так і чоловіків, тоді як пред'явлення феромоноподібних речовин викликає активацію, відмінну у представників різної статі [7]. Тому можна припустити, що різниця в реагуванні представників різної статі зумовлена не елементарними процесами кодування запахової інформації (сприйняття запахів та їх визначення), а швидше стилем її когнітивної обробки – ідентифікації, розрізнення, запахової пам'яті. Разом з тим, даних щодо змін нейродинамічних показників та ефективності запам'ятовування при сприйнятті приємних чи неприємних запахів у осіб різної статі небагато і вони є суперечливими.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В дослідженні взяло участь 63 студенти університету, (35 жінок та 28 чоловіків), 18-21 років, без ринальних патологій. Учасники обирали найбільш приємний і неприємний запах за їх суб'єктивною оцінкою з 10 запропонованих запахів ефірних олій рослинного походження (петітгрейн, тисячолист, полинь таврична, лаванда, м'ята, евкالیпт, кедр, аніс, іланг-іланг та лимон). У обстежуваних за допомогою комп'ютерної експрес-методики [8] реєстрували показники нейродинамічних функцій (латентні періоди (ЛП) сенсомоторних реакцій (СМР) (проста, реакція вибору); Час центральної обробки інформації (ЦОІ), який розраховували за формулою: $ЦОІ = ЛПРВ - ЛППР$, функціональну рухливість нервових процесів (ФРНП); працездатність головного мозку (ПГМ). За допомогою тесту стеження за об'єктом, що рухається, визначали точність реакції на рухомий об'єкт (ТРРО), кількість випереджуючих та запізнюючих реакцій та показник врівноваженості нервових процесів як відношення кількості випереджуючих та запізнюючих реакцій. Крім того, визначали показники точності короткочасної пам'яті (КЧП) на першо- та другосигнальні подразники у % помилок. В якості першосигнальних подразників пред'являлись геометричні фігури, другосигнальними подразниками слугували літери. Зазначені показники реєстрували тричі в різні дні – без дії сенсорних стимулів і під час фонові одорації приємним і неприємним, за попередньою оцінкою обстежуваного, запаху. При цьому джерело запаху розміщували на відстані 5 см від носа обстежуваного за 5 хвилин до початку тестування. Крім того, у всіх обстежуваних оцінювали ряд особистісних рис (12 шкал) за багатофакторним особистісним опитувальником FPI, після чого виявляли можливий зв'язок між гедонічною оцінкою запаху і індивідуально-типологічними характеристиками.

Статистична обробка даних проводилась за допомогою пакету програм STATISTICA (Soft) 6.0. Так як згідно тесту Ліліфора розподіл даних виявився не нормальним, ми використовували методи непараметричної статистики. Для опису одержаних даних застосовували медіани та міжквартильний розмах. Значущість відмін досліджуваних параметрів при порівнянні залежних вибірок проводилося за допомогою критерію знакових рангових сум Вілкоксона. Для порівняння показників незалежних вибірок (чоловіків з жінками) застосовували двох вибірковий U-критерій Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Серед запропонованих запахів найбільш часто оцінювали, як максимально приємний, запах лимону (40%) та іланг-ілангу (28%). До суб'єктивно неприємних запахів частіше за інші потрапляли запахи петітгрейну (25%), полину (22%), евкالیпту (17%). Аналіз виявив наявність взаємозв'язку між вибором неприємного запаху та такими психологічними характеристиками, як депресивність, екстраверсія, емоційна лабільність – обстежувані з високими балами за цими шкалами частіше надавали перевагу якомусь певному запаху (полин, петітгрейн), який вони оцінювали як неприємний. А от вибір суб'єктивно приємних запахів не був пов'язаний з особистісними рисами обстежуваних – незалежно від

психологічного „профілю” більшість обстежуваних обирали в якості приємного аромат лимону та іланг-ілангу.

Як видно з табл.1, сприйняття запахів, як неприємних, так і приємних, під час тестування, супроводжувалось зростанням швидкісних показників роботи ЦНС. Так, у осіб обох статей відбувалось зменшення часу ЦОІ, ЛП РВ та зростання ФРНП на фоні зростання ПГМ (зменшення % помилок). Такі зміни характеризують активаційні процеси в ЦНС, пов'язані із сенсорним впливом запахів, що було показано в численних енцефалографічних дослідженнях [1, 5]. Зважаючи на те, що ЛП простої СМР не змінювався в умовах одорації, при зменшенні ЛП РВ та часу ЦОІ, ми можемо стверджувати, що запахи впливали саме на центральну, а не периферичну ланку сенсомоторної реакції. Час СМР відображає загальний рівень збудження головного мозку. При здійсненні реакції вибору для організації відповіді залучаються додаткові системи, які повинні порівняти вхідний сигнал із інструкцією, із еталоном, що міститься в КЧП і виробити відповідну моторну програму, що буде відрізнятися для різних стимулів [10] – час необхідний для цих всіх процесів і фіксує тривалість ЦОІ, тоді як тривалість рухової реакції буде така сама, як при здійсненні простої СМР.

За даними томографічних досліджень, при необхідності вибіркового реагування на певну ознаку об'єкта, що відбувається в ситуації РВ, спостерігається активація лобної кори [11], зокрема дорзолатеральної префронтальної кори при визначенні просторових характеристик об'єкта, і орбітофронтальної при розрізненні якісних параметрів зорових подразників. Отже, ми можемо говорити, що тривалість ЦОІ і ФРНП відображають ступінь активації зазначених структур лобної кори. Можливість стимулюючого впливу запахових подразників на префронтальну кору є цілком ймовірною, оскільки окремі її ділянки (орбітофронтальна кора) отримують прямі проєкції від нюхової цибулини, а також входи від медіодорзальних ядер таламуса, куди прямують нервові закінчення із первинної нюхової кори та мигдалини [12].

Хоча такі зміни були спільними для всіх запахів незалежно від їх суб'єктивної оцінки обстежуваними, величина змін відрізнялась при сприйнятті приємних і неприємних запахів, а також у представників різної статі.

При порівнянні нейродинамічних показників у чоловіків і жінок без дії запахів було виявлено коротший ЛП простої СМР та вищу ПГМ у чоловіків. На фоні одорації неприємними запахами ця різниця нівелювалась, а от ЛП реакції вибору правої руки у чоловіків був коротшим, а ФРНП вища, ніж у жінок. Разом з тим у жінок при дії неприємних запахів зменшувався коефіцієнт сили нервової системи, і він був менший від такого у чоловіків. Як ми знаємо, нижчі значення КС спостерігаються у осіб з вищим рівнем активації, в яких при багаторазовому пред'явленні подразника швидше настає гальмівний ефект та сповільнення швидкості реагування [15], отже можна припустити, що у жінок сприйняття неприємного запаху викликає більший ріст фонові активації ЦНС ніж присутність приємного запаху. У чоловіків спостерігаються протилежні зміни КС – він вірогідно зменшується порівняно з контролем на фоні сприйняття приємного запаху.

Таблиця 1.
Властивості психофізіологічних функцій у жінок (n=35) та чоловіків (n=28) при
одорації суб'єктивно неприємним та приємним запахом
(Медіана, 25% та 75% кватиль)

Показник	Контроль		Неприємний запах		Приємний запах	
	Жінки	Чоловіки	Жінки	Чоловіки	Жінки	Чоловіки
Коефіцієнт сили	1,04 0,92-1,22	1,00 0,93-1,12	0,95 * 0,88-1,04	1,00 0,94-1,06	0,97 0,87-1,07	0,94 * # 0,86-1,00
ЛП простої СМР, мс	253 238-279	233 226-250	244 232-279	242 234-246	239 227-261	226 222-238
ЛП реакції вибору, мс	407 379-464	422 382-460	374** 360-391	361 ** 341-386	371** 354-406	382 ** # 370-387
ЛП РВ права рука, мс	416 378-454	396 368-450	368 ** 351-390	359 ** 325-368	365 ** 349-398	356 ** # 343-385
ЛП РВ ліва рука, мс	415 378-475	424 394-508	379 ** 366-401	379 ** 363-418	374 ** 355-406	386 ** 351-421
Час ЦОІ, мс	161 135-189	180 135-226	132 ** 112-145	125 ** 111-143	132 ** 115-150	149 ** ## 135-170
ФРНП, мс	566 454-710	521 400-670	482 414-610	386 ** 330-552	498 ** 398-570	378 ** 335-550
ПГМ, % помилок	9,5 7-12	5,0 4,0-10,00	5,5** 3,5-10	4,0 ** 2,5-8,50	6,5 ** 4-9,5	5,5 2,5-7,00
Точність реакції, піксели	13 9-23	2 1-3	10,5 * 6-15	2 1-5	8 ** 4-16	1 1-3
Кількість випереджуючих реакцій	14 11,00-29,00	5 3-6	10,5 6,5-33	3 3-6	11 * 6-28	5 3-6
Кількість запізнюючих реакцій	12 9-15	3 6-1	10 7-15,5	3 1-4	9 ** # 6,0-13,5	3 1-7
Врівноваженість	1,33 0,90-3,40	1,0 1,0-3,00	1,43 0,72-3,11	2,0 * 1,7-3,00	1,67 1,00-3,00	3,0 1,0-3,50
Точність КЧП літери, %помилок	17 10-22	23 17-70	15 12-18	15 * 13-23	12 * # 8-18	18 ** 13-23
Точність КЧП фігури, %помилок	35 28-38	30 23-35	32 25-40	30 23-37	28 * # 22-35	38 20-42

* - $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – на фоні одорації по відношенню до контрольного тестування.

Неоднаковими є також зміни ЛП РВ та часу ЦОІ у чоловіків та жінок (рис.1). Якщо у жінок спостерігаються тотожне зменшення ЛП РВ та ЦОІ при дії приємних і неприємних запахів, і час цих реакцій не відрізняється, то у чоловіків ми бачимо, що зменшення ЛП РВ та часу ЦОІ значно більше при дії неприємних запахів, і ці показники вірогідно менші порівняно з такими на фоні одорації приємними запахами.

ВПЛИВ ОДОРАЦІЇ ПРИЄМНИМИ ТА НЕПРИЄМНИМИ ЗАПАХАМИ

Звертає увагу і більш значне (порівняно з жінками) зростання ФРНП при дії запахів (табл.1), тоді як в контролі цей показник вірогідно не відрізнявся. Зазначені зміни вказують на те, що присутність неприємного запаху викликає більшу мобілізацію ЦНС у чоловіків, що сприяє швидкому реагуванню і уникненню дії потенційно небезпечного подразника, адже відомо, що неприємний запах зазвичай сигналізує про небезпечність його джерела. Цікавим, на нашу думку, є факт, що у жінок не спостерігалось різниці в інтенсивності змін швидкісних показників – вони були однаковими при дії і приємних і неприємних запахів. Отримані дані узгоджуються з результатами Чернінського А.О. [14], в роботі якого було показано, що одорація суб'єктивно неприємними запахами супроводжувалася додатковою активацією неокортекса за рахунок зниження спектральної потужності α_2 та θ_2 діапазонів та зростанні спектральної потужності β_2 -діапазону ЕЕГ. Крім того, в цій же роботі показано, що у чоловіків індуковані запахами зміни показників ЕЕГ та варіативності серцевого ритму були більш виражені, ніж у жінок, що також узгоджується з нашими даними.

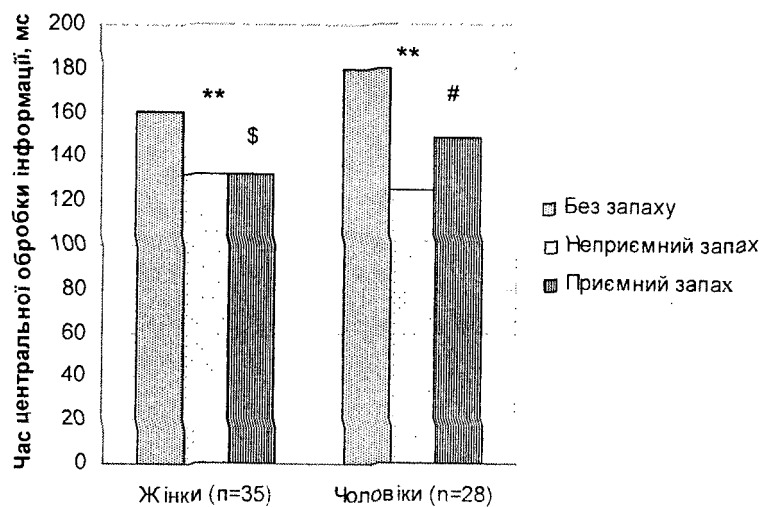


Рис.1. Час центральної обробки інформації в умовах одорації суб'єктивно неприємними і приємними запахами у обстежуваних різної статі.

** $p < 0,01$ – на фоні одорації по відношенню до тестування без запаху.

$p < 0,05$ – неприємний запах відносно приємного запаху.

\$ $p < 0,05$ – жінки відносно чоловіків.

Точність реакції на рухомий об'єкт була тим показником, що істотно відрізнявся у обстежуваних осіб різної статі в контролі. Як видно з таблиці 1, у чоловіків ТРРО і похідні показники були вірогідно нижчими, що свідчить про їх більшу влучність при стеженні за рухомим об'єктом, напевно таку відмінність в контролі можна пояснити закріпленою історично роллю мисливця, а також більшим досвідом при влученні в мішень порівняно з жінками. Одорація запахами не впливала на показники точності, кількість випереджуючих та запізнюючих реакцій у чоловіків, тоді як у жінок ці показники покращувались від досліду до досліду, що

можна пояснити ефектом тренування. В нашій попередній роботі [13] ми досліджували вплив повторного проходження тестування на досліджувані показники, і спостерігали незначне покращення ТРРО та зменшення ЛПРВ, що правда без врахування статі обстежуваних.

Найбільш істотна гендерна різниця стосувалась показників, що характеризують КЧП. В контролі жінки допускали менше помилок при запам'ятовуванні літер і більше при запам'ятовуванні фігур (див. табл.1). Такі результати узгоджуються з даними літератури про кращу вербальну пам'ять у жінок порівняно з чоловіками [16]. При фоновій одорації відбувалось прогресивне зменшення кількості помилок при запам'ятовуванні літер у представників обох статей, хоча при сприйнятті неприємного запаху у жінок зменшення кількості помилок було невірогідне. Цікаво, що точність КЧП на фігури у жінок покращувалась від 35% помилок в контролі до 28 % при одорації приємним запахом. А от у чоловіків цей показник вірогідно не змінювався впродовж трьох етапів експерименту, хоча й був вірогідно меншим порівняно з таким у жінок в контролі. Взагалі зростання точності КЧП при дії запахів пояснюють з точки зору підвищення рівня активації головного мозку, що, як відомо [17], до певної межі сприяє запам'ятовуванню. В нашому дослідженні також, очевидно, це пояснення є справедливим, так як у чоловіків відбувалось покращення запам'ятовуванні літер при дії як приємних, так і неприємних запахів. З іншого боку, ми бачимо, що одорація приємним запахом покращувала запам'ятовування літер і фігур у жінок, і літер у чоловіків. Одним з пояснень такого позитивного впливу на запам'ятовування може бути те, що найчастіше в якості найбільш приємного запаху обстежувані обирали запах лимону, який відомий своїм впливом на процеси уваги і пам'ять [13].

ВЫВОДЫ

1. Сприйняття людиною запахів ефірних олій впливає на роботу центральної нервової системи, що виявляється у зростанні швидкісних показників роботи головного мозку, підвищенні функціональної рухливості нервових процесів та підвищенні працездатності головного мозку. Такі зміни є спільними як для дії суб'єктивно приємних так і для суб'єктивно неприємних запахів.
2. Одорація суб'єктивно приємними запахами покращує короточасну пам'ять на літери у осіб обох статей і на геометричні фігури у жінок.
3. Суб'єктивно неприємні запахи зумовлюють сильніший вплив на функціональний стан нервової системи у чоловіків, ніж приємні, що виявляється у зростанні функціональної рухливості нервових процесів і суттєвому зменшенні часі центральної обробки інформації, що можна пояснити активацією центральної нервової системи, направленою на швидке усунення впливу негативного подразника.

Список литературы

1. Alaoui-Ismaïl O., Vernet-Maury E., Dittmar A., Delhomme G., Chanel J. Odor hedonics: connection with emotional response estimated by autonomic parameters // *Chemical Senses*. – 1997. – Vol. 22. – P.237-48.
2. Massago R., Matsuda T., Kikuchi Y. et al. Effects of Inhalation of Essential Oils on EEG Activity and sensory

ВПЛИВ ОДОРАЦІЇ ПРИЄМНИМИ ТА НЕПРИЄМНИМИ ЗАПАХАМИ

- evaluation // Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science – 2000. – Vol. 19, №1. – P.35-42.
3. Зима І.Г., Крижанівський С.А., Чернінський А.О. Зміни в ЕЕГ людини при сприйнятті запахів залежно від ступеня їх суб'єктивної приємності чи неприємності // Київський національний університет імені Тараса Шевченка. Вісник. Біологія – 2002. – Вип. 36. – С.31-35.
 4. Royet J-P., Plailly J., Delon-Martin Ch., Kareken D.A., Segebarth C. fMRI of emotional responses to odors: influence of hedonic valence and judgment, handedness, and gender // NeuroImage. – 2003. – Vol. 20, №2. – P. 713-728.
 5. Rolls E.T., Kringelbach M.L., de Araujo I.E. Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain // European Journal of Neuroscience – 2003. – Vol.18, №3. - P.695-703.
 6. Bengtsson S., Berglund H., Gulyas B. et al. Brain activation during odor perception in males and females.// Neuroreport – 2001. - Vol. 12, № 9. - P. 2027-2033.
 7. Savic I, Berglund H, Gulyas B, Roland P. Smelling of odorous sex hormone-like compounds causes sex-differentiated hypothalamic activations in humans // Neuron. – 2001. - Vol.31, №4. -P.661-668.
 8. Філімонова Н.Б. Комп'ютерна експрес-методика для визначення психофізіологічного стану людини // В кн.: Матеріали II Міжнародної наук.-метод. конф. "Культура здоров'я як предмет освіти". Херсонський держ. пед.ун-т., 2000р. – с.204-209.
 9. Зима І.Г., Кравченко В.І., Чернінський А.О., Крижанівський С.А., Піскорська Н.Г. Електроенцефалографічні кореляти змін, викликаних дією ефірної олії лимона (*Citrus limonium Risso*) // Науковий вісник ВДУ. Журнал Волинського державного університету ім. Лесі Українки: біологічні науки. – 1999. - №4. – С.50-55.
 10. Miller J. O. Low K. Motor processes in simple, go/no-go, and choice reaction time tasks: a psychophysiological analysis // Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance.- 2001.- Vol.27. –P.266.
 11. Dove A., Pollmann S., Schubert T. Prefrontal cortex activation in task switching: an event-related fMRI study // Brain Researches. - 2000.- Vol.10. –P.103-119.
 12. Rolls E.T. The Functions of the Orbitofrontal Cortex // Neurocase.- 1999.-Vol.5.-P.301-312.
 13. Кравченко В.І., Макаручук М.Ю. Вплив одорації ефірними оліями лимону та лаванди на показники властивостей психофізіологічних функцій // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. Серія біологія – Вип.43. – 2004.–С. 82-85.
 14. Чернінський А.О. Ольфактивна дія рослинних ефірних олій на функціональну активність головного мозку людини / Автореферат дисертації на здобуття ступеня кандидата біологічних наук. – Київ. 2005. – С.12.
 15. Ильин Е.П. Дифференциальная психофизиология – СПб.: Питер, 2001. – С.120.
 16. Ильин Е.П. Дифференциальная психофизиология мужчины и женщины – СПб.: Питер, 2007. - С.130.
 17. Park J. Effect of arousal and retention delay on memory: a meta-analysis // Psychological Reports – 2005. - Vol. 2 – P.339-355.

Кравченко В.І., Макаручук Н.Е., Турта О.І. Влияние одорации приятными и неприятными запахами на психофизиологические функции мужчин и женщин // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”, – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С.33-39.

В статье обсуждаются возможные механизмы влияния запахов на нейродинамические и когнитивные функции представителей разного пола.

Ключевые слова: субъективная оценка запаха, латентные периоды реакций, скорость протекания нервных процессов, кратковременная память, пол.

Kravchenko V.I., Makarchuk M.Ju., Turta O.I. Influence of odoration of pleasant and unpleasant odors on psychophysiological functions of male and female // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P.33-39.

In present article the possible mechanisms of odor effect on neurodynamic and cognitive functions of male and female are discussed.

Keywords: subjective evaluation of odor, time reaction scores, velocity of nervous processes, short-term memory, gender.

Поступила в редакцію 06.07.2007 г.

УДК 612.821:159.938

ДИАГНОСТИКА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЭМОЦИЙ ПО АМПЛИТУДНО-ЧАСТОТНЫМ ПАРАМЕТРАМ РЕЧЕВОГО СИГНАЛА

Конарева И.Н.

Представлен экспериментальный материал, касающийся проблемы диагностики фундаментальных эмоций по параметрам речи. Установлено, что амплитудные (громкость) и частотные (высота) характеристики речевого сигнала достоверно коррелируют с выраженностью эмоций гнева, вины, радости, интереса, отвращения, удивления и др. Выявлены характеристические амплитудно-частотные диапазоны спектральных компонентов речевого сигнала для стенических и астенических эмоциональных состояний, определяемых с использованием методики К. Изарда.

Ключевые слова: речевой сигнал, спектральный анализ, громкость, частота, фундаментальные эмоции.

ВВЕДЕНИЕ

Регистрация и анализ параметров речевого сигнала могут быть использованы как информативный метод диагностики эмоционального состояния человека. При этом исследуются такие характеристики речи, как особенности интонации, динамика интенсивности и частота основного тона голоса (модальное значение распределения частот), специфика темпа артикулирования и паузации, лингвистические особенности построения фраз и т.д. [1].

Основная часть подобных работ выполнялись в области инженерной психологии, для прогнозирования эффективности работы человека-оператора по характеристикам его речи [2, 3]. В настоящее время существенное внимание уделяется изучению взаимосвязи показателей речи со свойствами индивидуальности [4] и речевого поведения при психических расстройствах [5].

Основными характеристиками речевого сигнала являются средняя амплитуда звуковых колебаний (громкость) и модальная частота (высота) [6, 7]. Высказано мнение, что эти показатели несут необходимую и достаточную информацию для идентификации личности по голосу при минимальном времени восприятия (5-15 с). Спектральные характеристики речи при естественном звучании неизменны, причем эта инвариантность сохраняется и при инверсии речевых сигналов во времени [8].

Есть основания полагать, что амплитудно-частотные параметры речевого сигнала несут информацию об особенностях переживаемого человеком эмоционального состояния [1, 9, 10].

Несмотря на многочисленные работы в данной области, специальных исследований связи фундаментальных эмоций с амплитудно-частотными параметрами речевого сигнала пока практически не проводилось. Поэтому задачей

ДИАГНОСТИКА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЭМОЦИЙ

нашего исследования явилась проверка возможности диагностики ряда фундаментальных эмоций по характеристикам речи с использованием спектрального анализа речевых сигналов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняло участие 30 человек обоего пола, в возрасте 19-20 лет. Исследование проводилось по следующей схеме:

1. Тестирование эмоционального состояния испытуемого с использованием методики «Шкала дифференциальных эмоций» К. Изарда, позволяющей определить доминирующую в данное время эмоцию и коэффициент самочувствия как отношение суммарных баллов положительных (стенических) и отрицательных (астенических) эмоций [11].

2. Запись голоса испытуемого с использованием программы Sonic Foundry Sound Forge v.5.0 во время чтения цитаты из произведения Л. Н. Толстого в течение 10-15 секунд.

3. Обработка речевого сигнала с помощью компьютерных программ Sonic Foundry Sound Forge v.5.0, SpectraLab spectrum analysis system v.4.32.11 и WaveLab v.2.0. В ходе анализа речевого сигнала определяли среднюю и максимальную громкость (дБ над порогом слышимости), модальную и максимальную частоты (Гц) и особенности частотного спектра данного сигнала.

Регистрация речевого сигнала производилась с использованием специального микрофона (узконаправленный, чувствительность: -58 ± 3 дБ). Обработка и анализ полученных данных выполнялись с помощью компьютера IBM PC, для измеряемых характеристик рассчитывали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Регистрация речевых сигналов позволяла получить их спектрограммы. Один из примеров результатов подобного анализа приведен на рисунке.

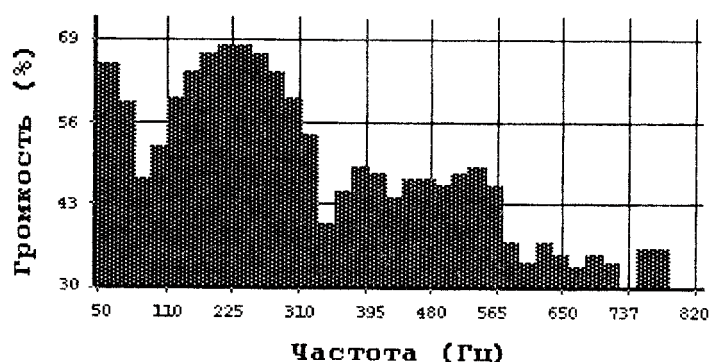


Рис. Спектр речевого сигнала одного из испытуемых. По оси абсцисс – частота колебаний (Гц), по оси ординат – нормированная громкость (%). Уровень максимальной громкости, задаваемый программно, принят за 100 %.

Как видно, спектрограммы анализируемых речевых сигналов носили полимодальный характер. При этом, как основная модальная частота сигнала, так и характеристические частоты других компонентов спектра могли быть определены достаточно четко.

В ходе нашей работы в пределах исследованной группы были выявлены значимые отрицательные корреляционные связи между коэффициентом «самочувствие» опросника к. Изарда и средней громкостью ($r=-0,297^{**1}$), максимальной громкостью ($r=-0,626^{**}$), модальной частотой ($r=-0,531^{**}$). Таким образом, степень выраженности положительных эмоций в целом соответствовала меньшим значениям указанных параметров речевого сигнала.

Коэффициенты корреляции между амплитудно-частотными параметрами речевого сигнала и выраженностью некоторых фундаментальных эмоций (Табл.) достигали уровня статистической значимости.

Таблица

Коэффициенты корреляции между параметрами громкости и частоты речевого сигнала и фундаментальными эмоциями, выявляемыми путем субъективного тестирования

Эмоции, по К. Изарду	Параметры речевого сигнала			
	Основная модальная частота, Гц	Максим. частота, Гц	Средняя громкость, дБ	Максим. громкость, дБ
Положительные:				
Интерес	0,166*	–	-0,210**	–
Радость	-0,222**	–	-0,302**	-0,361**
Удивление	0,253**	–	–	–
Стыд	–	0,463**	–	–
Вина	0,179*	-0,152*	-0,341**	-0,163*
Отрицательные:				
Горе	–	–	–	0,184*
Гнев	0,438**	0,208**	0,158*	0,484**
Отвращение	–	0,228**	–	0,362**
Страх	–	–	–	0,180*
Презрение	–	–	–	–

Наиболее тесно связанными с изучаемыми параметрами речевого сигнала оказались показатели эмоций «гнева», «вины», «радости», затем эмоций «интереса», «отвращения». Известно, что при идентификации доминирования эмоций «гнева» и «радости» с использованием субъективного тестирования допускается наименьшее количество ошибок [12]. Не обнаруживалось достоверной корреляционной связи

¹ Здесь и далее одной и двумя звездочками отмечены уровни значимости коэффициентов корреляции, при $P>0,95$ и $P>0,99$ соответственно.

показателей эмоции «презрение» с параметрами речевого сигнала; данное обстоятельство, по-видимому, связано с тем, что эта эмоция характеризуется самым низким уровнем физиологического возбуждения [12]. Промежуточное положение по числу корреляционных связей, а значит, и точности диагностики занимали эмоции «удивление», «стыд», «горе» и «страх».

Качественный анализ спектрограмм и полученных корреляций показал, что при отрицательном эмоциональном состоянии в речевом сигнале становились более выраженными высокие частоты и наблюдалась большая громкость; при положительном же в целом эмоциональном состоянии отмечалось более равномерное распределение частот и меньшая громкость. Данный факт может быть объяснен тем, что положительное эмоциональное состояние у человека не вызывает столь четких вегетативных реакций, как негативное, и изменения основных функциональных характеристик организма сравнительно невелики [12].

Нами были выявлены характеристические амплитудно-частотные диапазоны для стенических и астенических эмоциональных состояний, определяемых с использованием методики К. Изарда. Так, доминирование эмоции «гнев» обычно характеризовалась наличием в спектрограммах выраженного максимума в диапазоне от 300 до 600 Гц, и в эпизодах нарастания частоты нарастала громкость. Эмоция «радость» коррелировала с максимумом в области от 20 до 100 Гц, имеющим относительно низкую амплитуду, и вторым относительно высокоамплитудным максимумом на значении 450-500 Гц. Эмоция «удивление» характеризовалась наличием выраженного компонента в диапазоне от 180 до 600 Гц и увеличением амплитуды речевого сигнала. Эмоции «вины» соответствовали частотные диапазоны от 190 до 250 Гц и от 320 до 590 Гц при сохранении относительно низкой громкости речевого сигнала. Эмоция «интерес» проявлялась наличием максимумов в диапазоне от 50 до 450 Гц с относительно низкой громкостью и в диапазоне от 150 до 500 Гц с нарастанием громкости.

Физиологические механизмы связи особенностей генерации речевого сигнала с тем или иным эмоциональным состоянием – это достаточно сложный вопрос, который выходит за рамки нашего исследования. Эмоциональное состояние человека включает в себя комплекс психофизиологических характеристик, которые отражаются как в объективных (электроэнцефалографических и вегетативных) показателях, так и в субъективных, выявляемых с помощью психологических тестов. Так, сдвиги эмоционального состояния приводят к изменениям электрической активности, кровотока и метаболических процессов в различных областях головного мозга [10], частоты сердечных сокращений, артериального давления, частоты дыхания, напряжения мышц гортани и т.д. [7, 12]. Обнаруживаются и изменения содержания гормонов в крови, в частности, при эмоциях стенического типа выделяется преимущественно адреналин, а при эмоциях астенического типа – норадреналин [12]. При этом дефицит норадреналина вызывает депрессию, проявляющуюся в основном в виде эмоции тоски, а дефицит серотонина – депрессию с доминированием эмоции тревоги [13].

Выявление объективных коррелятов эмоций и эмоциональных состояний дает возможность изучать взаимоотношения между различными уровнями организации

поведения человека. Полученные нами результаты показывают, что анализ параметров речевого сигнала является достаточно перспективным подходом в данном аспекте.

ВЫВОДЫ

1. Анализ образцов речи с использованием компьютерных пакетов обработки звука Sound Forge, SpectraLab и WaveLab позволяет получить определенные оценки психофизиологического состояния человека (доминирования тех или иных эмоций) по амплитудно-частотным характеристикам подобных образцов.
2. Установлено, что амплитудные (громкость) и частотные (высота) характеристики речевого сигнала достоверно коррелируют с выраженностью некоторых фундаментальных эмоций в данном эмоциональном состоянии испытуемого.

Список литературы

1. Носенко Э.Л., Ельчанинов П.Е., Крылова Н.В., Петрухин Е.В. О возможности оценки эмоциональной устойчивости человека по характеристикам его речи // Вопросы психологии. – 1977. – № 3. – С. 46-56.
2. Еращенко Н. А. Анализ параметров речевого потока при непрерывной работе человека оператора /Методика и аппаратура психофизиологического эксперимента. Отв. ред. В.Г. Волков. – М.: Наука, 1983. – С. 79.
3. Черкасов О. А. Речевые показатели состояний оператора в РНД /Методика и аппаратура психофизиологического эксперимента. Отв. ред. В.Г. Волков. – М.: Наука, 1983. – С. 78.
4. Никонов А. В., Белова Е. В. Соотношение формально-динамических свойств индивидуальности и акустических характеристик речи // Психологический журнал. – 2000. – Т. 21. – № 5.
5. Ганзин И.В. Комплексная диагностика речевого поведения при психических расстройствах: Диссертация на соиск. ... д-ра мед. наук. – Симферополь, 2002. – 420 с.
6. Шиффман Х. Ощущение и восприятие. – СПб.: Питер, 2003. – 928 с.
7. Физиология сенсорных систем. Часть 2 // Серия «Руководство по физиологии». – Л.: Наука, 1972. – 703 с.
8. Пашина А.Х., Морозов В.П. Опознание личности по голосу на основе его нормального и инвертированного во времени звучания // Психологический журнал. – 1990. – Т. 11, № 3. – С. 70-78.
9. Носенко Э.Л. Попытка системного подхода к анализу речи в состоянии эмоциональной напряженности // Психологический журнал. – 1980. – Т. 1, № 6. – С. 54-61.
10. Сидорова О.А. Нейропсихология эмоций. – М.: Наука, 2001. – 147 с.
11. Изард К.Э. Эмоции человека. – М.: МГУ, 1980. – 140 с.
12. Ильин Е.П. Эмоции и чувства. – СПб.: Питер, 2001. – 752 с.
13. Данилова Н.Н. Психофизиологическая диагностика функциональных состояний. – М.: МГУ, 1992. – 192 с.

Конарева И.М. Диагностика фундаментальных эмоций по амплитудно-частотным параметрам мовного сигналу // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С.40-45.

Наведено експериментальний матеріал щодо проблеми діагностики фундаментальних емоцій згідно з кількісними параметрами мови. Встановлено, що амплітудні (гучність) і частотні (висота) характеристики мовного сигналу достовірно корелюють з вираженістю емоцій гніву, вини, радості, інтересу, огиди, здивування та ін. Виявлені характеристичні амплітудно-частотні діапазони спектральних компонентів мовного сигналу для стеничних та астеничних емоційних станів, котрі

ДИАГНОСТИКА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЭМОЦИЙ

визначалися з використанням методики Ізарда.

Ключові слова: мовний сигнал, спектральний аналіз, гучність, частота, фундаментальні емоції.

Konareva I.N. Diagnostics of fundamental emotions according to the amplitude/frequency parameters of vocal signals // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 40-45.

We present experimental data on the problem of the diagnostics of fundamental emotions according to the quantitative indices of the speech samples. The amplitude (loudness, sound volume) and frequency (sound height) characteristics of the vocal signal significantly correlated with the levels of emotions of «anger», «guilt», «gladness», «interest», «disgust», etc. Characteristic amplitude/frequency ranges for the components of the spectrum of vocal samples typical of the stenic and astenic emotional states (determined using a technique of Izard) have been identified.

Keywords: vocal signals, spectral analysis, loudness, frequency, fundamental emotions.

Поступила в редакцію 22.10.2007г.

УДК 582.949.2+581.4

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА В ПОДСЕМЕЙСТВЕ *LAMIOIDEAE* L.

Лысякова Н.Ю., Симагина Н.О.

Исследованы цитозмбриологические особенности семейства *Lamiaceae* L. Установлена структура мужского гаметофита и определены морфометрические показатели пыльцевых зерен 20 видов из 7 родов подсемейства *Lamioideae* L. Выявлена видовая специфичность формы пыльцевых зерен у видов рода *Salvia* L. Определены сроки сохранения жизнеспособности пыльцевых зерен, а также зависимость между количеством прорастающих пыльцевых зерен и количеством завязывающихся семян.

Ключевые слова: мужской гаметофит, фертильность, жизнеспособность пыльцы

ВВЕДЕНИЕ

Палиноморфологические признаки растений играют большую роль при изучении таксонов разных категорий и общности их происхождения, представляя большой теоретический и практический интерес. Морфологическая характеристика пыльцевых зерен растений позволяет установить степень родства между отдельными систематическими группами, одновременно дополняя их общую биологическую характеристику. Основное внимание при изучении морфологических признаков пыльцевых зерен обращается на форму пыльцевого зерна, тип апертуры, характер орнаментации экзины. Считается, что морфологические признаки достаточно константны в пределах одного вида, хотя и могут отличаться у различных форм одного и того же вида [1,2].

Среди большого разнообразия покрытосеменных растений особое внимание уделяется семейству губоцветные. Широкое практическое использование губоцветных в качестве технических, лекарственных и ароматических растений определяется наличием большого количества эфирных масел. Из девяти подсемейств выделяемых в семействе *Lamiaceae* L., наиболее интересным для изучения является подсемейство *Lamioideae* L. В пределах данного подсемейства наиболее перспективными представителями являются виды родов *Mentha* L. и *Salvia* L. В связи с этим актуальность нашей работы определяется с одной стороны теоретическими аспектами выяснения особенностей строения мужского гаметофита, выявления филогенетических и систематических связей, а с другой стороны практическими проблемами прикладной селекции в частности определения сроков жизнеспособности пыльцы и выявления причин низкой завязываемости семян у исследуемых объектов [3 – 6]. Цель наших исследований состояла в установлении особенностей строения мужской генеративной сферы и мужского гаметофита некоторых представителей подсемейства *Lamioideae* L.

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы исследований: представители семи родов подсемейства *Lamioideae* L.: *Lamium* L., *Melissa* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Salvia* L., *Stachys* L., *Thymus* L. Для морфометрического анализа пыльцевых зерен были отобраны 20 дикорастущих видов этих родов, а также полиплоидные формы *Mentha aquatica* L. К6 (4n), *Mentha longifolia* (L.) Huds.; образцы "М" и "Х" с восстановленной фертильностью, полученные из форм *Mentha longifolia* (L.) Huds. №13 и № 36 соответственно в Институте эфиромасличных и лекарственных растений. Для качественного анализа пыльцы были выбраны два вида *Mentha aquatica* L. и *Salvia sclarea* L., а также гибридный, гетерозисный сорт шалфея мускатного «Рубин».

Анализ морфометрических показателей и фертильности пыльцы проводили с помощью ацетокарминового метода [8]. Для определения сроков сохранения жизнеспособности пыльцевых зерен использовали метод проращивания в водном растворе сахарозы разных концентраций (5, 10, 15 и 20%) и дистиллированной воде-контроль [9]. Объем выборки при проведении посева составлял не менее 80 – 100 пыльцевых зерен каждого вида. Количество завязавшихся семян определяли по опылению цветков исследуемого вида на 2 – 3 день после их раскрытия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа пыльцы исследуемых видов было установлено, что у большинства видов подсемейства *Lamioideae* L. пыльцевые зерна имеют округлую или эллиптическую форму. Редко отмечены пыльцевые зерна неправильной или угловатой формы. Соотношение размеров пыльцевых зерен различных представителей подсемейства, колеблется в пределах от 3 до 8,5 мкм. Наиболее мелкие пыльцевые зерна у представителей родов *Thymus* L., *Lamium* L. и *Mentha* L., их диаметр не превышает 5 мкм. Среди видов с крупной пыльцой следует отметить представителей рода *Melissa* L. Диаметр пыльцевых зерен составляет $8,5 \pm 0,3$ мкм. (Табл. 1).

Таблица 1.

Размеры пыльцевых зерен некоторых родов подсемейства *Lamioideae* L. ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)








Вид	Диаметр, мкм
<i>Lamium</i> L.	$4,7 \pm 0,3$
<i>Melissa</i> L.	$8,5 \pm 0,3$
<i>Mentha</i> L.	$3,3 \pm 0,3$
<i>Origanum</i> L.	$4,2 \pm 0,5$
<i>Salvia</i> L.	$5,7 \pm 0,4$
<i>Stachys</i> L.	$5,2 \pm 0,4$
<i>Thymus</i> L.	$3,8 \pm 0,4$

В пределах подсемейства *Lamioideae* L., выявлены двуклеточный и трехклеточный типы мужского гаметофита. Двуклеточное пыльцевое зерно

включает сифоногенную и спермиогенную клетки. В состав трехклеточного пыльцевого зерна входят сифоногенная клетка и два спермия. Более совершенными в эволюционном отношении считаются трехклеточные пыльцевые зерна, которые отмечены у родов *Melissa* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Salvia* L. и *Thymus* L. В сочетании с другими анатомо-морфологическими и цитозембриологическими характеристиками этот показатель может служить основой для филогенетических построений, как в пределах данного подсемейства, так и в семействе в целом.

Для родов *Salvia* L. и *Mentha* L. нами было проведено более детальное морфологическое исследование мужского гаметофита с учетом размеров и формы пыльцевых зерен, а также характера орнаментации экзины. Род *Salvia* L. палиноморфологически диморфен (Табл 2.).

Таблица 2.
Форма и размеры пыльцевых зерен некоторых видов рода *Salvia* L.

Вид	Форма пыльцевого зерна	Диаметр мкм
<i>Salvia grandiflora</i> Elt.		6,5 ± 0,3
<i>Salvia horminum</i> L.		6,2 ± 0,5
<i>Salvia austriaca</i> Jacq.		7,0 ± 0,3
<i>Salvia verticillata</i> L.		5,7 ± 0,4
<i>Salvia nemorosa</i> L.		8,2 ± 0,1
<i>Salvia sclarea</i> L.		7,6 ± 0,2
<i>Salvia aethiopsis</i> L.		7,1 ± 0,5

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

В пределах этого рода встречаются пыльцевые зерна двух типов: округлые и эллиптические. Их размеры, у изученных нами видов шалфея, варьируют в пределах от 5 до 8,5 мкм. Среди видов с округлой формой зерен наиболее мелкими являются пыльцевые зерна *Salvia verticilata* L., а наиболее крупными у *Salvia nemorosa* L. Виды с эллипсоидальной пыльцой не обнаруживают большой разницы в размерах. Их размеры варьируют от 6,5 до 7,5 мкм по диаметру и от 5,0 до 5,5 мкм по длине. Исследованные виды характеризуются одно- и трехбороздным типом апертур. Борозды у пыльцевых зерен эллипсоидальной формы – узкие, щелевидные, по длине 0,5 мкм от длины самого зерна.

У некоторых видов были обнаружены аномальные, дефектные пыльцевые зерна. У *Salvia austriaca* Jacq. наряду с пыльцевыми зернами с диаметром от 7,0 до 7,5 мкм встречались пыльцевые зерна размером 3,0 – 3,5 мкм. У *Salvia grandiflora* Elt. средний размер пыльцевого зерна составляет 6,5 мкм, однако в ходе наших исследований были обнаружены пыльцевые зерна 3 – 3,5 мкм в диаметре. Аномальность проявляется в недостаточной структурированности апертур и отсутствии борозд.

Род *Mentha* L. палиноморфологически однороден. Среди представителей этого рода встречаются пыльцевые зерна лишь округлой формы. Диаметр их составляет 3,0 – 3,5 мкм. Были исследованы четыре вида мяты: *Mentha aquatica* L., *Mentha longifolia* (L.)Huds., *Mentha spicata* L., *Mentha piperita* L. Полученные данные позволяют утверждать, что пыльца этих видов не имеет существенной разницы по форме и размерам.

Наряду с дикорастущими видами мяты, были изучены полиплоидные формы двух видов *Mentha aquatica* L. и *Mentha longifolia* (L.) Huds. Установлено, что размеры пыльцевых зерен дикорастущих видов и их полиплоидных форм не обнаруживают значительное расхождение по диаметру (Табл.3).

Таблица 3.

Размеры пыльцевых зерен полиплоидных форм рода *Mentha* L.

Вид	Диаметр пыльцевых зерен, мкм
<i>Mentha aquatica</i> L. К6 (4n)	2,9 ± 0,2
<i>Mentha longifolia</i> (L.)Huds. № 13*	–
М 13	3,1 ± 0,03
М15	3,0 ± 0,2
М 16	3,2 ± 0,2
<i>Mentha longifolia</i> (L.)Huds. № 36*	–
Х 13	3,3 ± 0,2
Х 15	3,4 ± 0,3

* диаметр пыльцевых зерен *Mentha longifolia* (L.) Huds. образцов № 13 и №36 не измерялся, так как они изначально были стерильны и не представляли практического интереса.

Исследованные виды мяты характеризуются одно-, двух - и трехбороздной структурой экзины. Аномалии, связанные с отсутствием борозд, встречаются крайне редко.

Наряду с морфологическим анализом определялась жизнеспособность пыльцы *Salvia sclarea* L. и *Mentha aquatica* L. Оптимальные концентрации раствора сахарозы для этих видов составляют 10% и 15%, соответственно. У шалфея мускатного пыльца сохраняет жизнеспособность в течение 10 суток, наиболее активно пыльцевые зерна прорастают на четвертые сутки. На одиннадцатые сутки число проросших пыльцевых трубок резко снижается до 5%, большинство из которых аномальные. Процент фертильной пыльцы составляет 75 – 80%. На долю стерильных пыльцевых зерен приходится 20 – 25%.

В результате изучения жизнеспособности пыльцевых зерен *Mentha aquatica* L. было установлено, что пыльца сохраняет свою способность прорасти, при обычных условиях хранения на протяжении двенадцати суток. По литературным источникам этот срок составляет пятнадцать суток [3]. Наиболее активно процесс прорастания пыльцевых трубок протекает на восьмые сутки эксперимента, но достаточно высокий процент проросших пыльцевых зерен (выше 50%), наблюдается уже на шестые сутки. На двенадцатые сутки количество проросших пыльцевых трубок составляет 27,5%, а через день этот показатель практически равен нулю. Процент фертильной пыльцы, в пределах вида, составляет 85%; на долю аномальных пыльцевых зерен приходится 15%.

Аномалии проявляются в нарушении структурированности экзины, маленьких размеров пыльцевых зерен, а также в нетипичном двухклеточном строении мужского гаметофита. В отличие от дикорастущих особей *Mentha aquatica* L., жизнеспособность пыльцевых зерен полиплоидной формы *Mentha aquatica* L. К6 (4n) несколько выше. По литературным данным [3], при обычных условиях хранения пыльца образца *Mentha aquatica* L. К6 (4n) сохраняет способность прорасти до 18 суток. Количество полноценных фертильных пыльцевых зерен для полиплоидной формы составляет 90%. Стерильные пыльцевые зерна составляют 10-15%. Они характеризуются мелкими размерами и частичным или полным отсутствием борозд на поверхности экзины.

Таким образом, сроки сохранения жизнеспособности пыльцы у исследованных нами видов, отличаются незначительно. Можно четко выделить три основных периода при прорастании пыльцевых трубок, длительность которых у исследуемых видов индивидуальна: период увеличения активности прорастания пыльцевых зерен; период наиболее активного прорастания; период снижения активности прорастания.

Для *Salvia sclarea* L. характерен резкий скачок активности прорастания пыльцевых зерен (от 23% на первые сутки до 70% на четвертые), а затем плавное снижение активности до 5% в течение одной недели. Для мяты характерно более длительное и плавное увеличение активности прорастания в течение первого периода (от 20% до 80% в течение восьми дней), а затем более резкий спад активности (рис. 1).

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

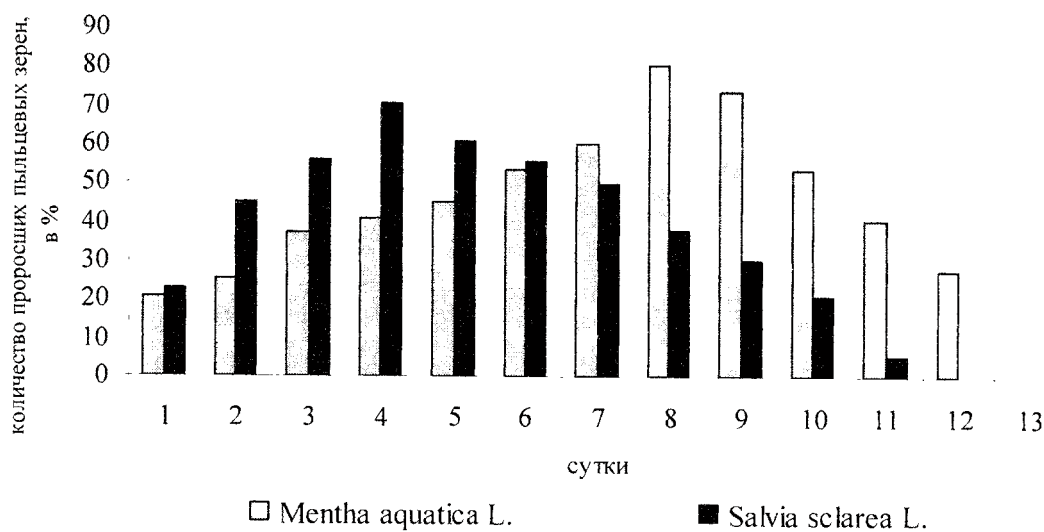


Рис. 1. Сравнительная характеристика жизнеспособности пыльцевых зерен *Mentha aquatica* L. и *Salvia sclarea* L.

Одной из наиболее актуальных проблем при введении *Salvia sclarea* L. и *Mentha aquatica* L. в культуру является низкая семенная продуктивность, которая при свободном опылении составляет от 8 до 20% у *Salvia sclarea* L. и 35 – 40% у *Mentha aquatica* L.. Согласно данным литературы [5] на завязываемость семян может влиять ряд факторов: условия внешней среды, положение цветка на растении, аномалии в развитии мужского гаметофита. Одним из методических приемов позволяющих установить причины низкой завязываемости семян является цитоморфологическое исследование пыльцевых зерен растений вводимых в культуру. Для определения причин низкой продуктивности семян были сопоставлены способность к завязыванию семян, как при свободном, так и при искусственном доопылении фертильной пыльцой. По результатам, полученным при совместной работе с сотрудниками ИЭЛР, было установлено, что искусственное доопыление фертильной пыльцой материнской линии, значительно увеличивает процент завязавшихся семян.

В ходе эксперимента по опылению цветков наиболее перспективного по хозяйственно-ценным признакам сорта *Salvia sclarea* L. «Рубин» пыльцой хранившейся от 1 до 11 суток установили, что наибольшее количество семян (65 – 70%) формируется при опылении пыльцой на 4 – 5 сутки хранения.

При свободном опылении цветков *Mentha aquatica* L. завязываемость семян составляет 35-40%. В результате искусственного доопыления цветков *Mentha aquatica* L. фертильной пыльцой процент завязавшихся семян увеличивается в 1,5 – 2 раза, а наибольшее количество семян (79%) образуется при опылении пыльцой на 8 сутки хранения (Табл.4).

Таблица 4.

Завязываемость семян *Salvia sclarea* L. и *Mentha aquatica* L. в зависимости от сроков хранения пыльцы.

Срок хранения, сутки	<i>Salvia sclarea</i> L. Сорт «Рубин»		<i>Mentha aquatica</i> L.	
	Количество проросших пыльцевых зерен, %	Количество завязавшихся семян, %	Количество проросших пыльцевых зерен, %	Количество завязавшихся семян, %
1	23,0	15,0	20,5	17,0
2	45,5	35,4	25,5	18,0
3	56,0	49,5	37,5	25,6
4	70,5	65,0	40,7	34,5
5	60,5	70,5	45,0	42,4
6	55,6	45,0	55,5	49,0
7	49,5	37,5	60,0	57,3
8	38,0	20,5	80,3	79,5
9	30,0	14,0	73,5	68,0
10	20,5	0	53,5	53,2
11	5,0	0	40,6	44,7
12	0	0	27,5	19,7
13	0	0	0	0

Это объясняется тем, что при свободном опылении значительная часть семязачатков остается неоплодотворенной, хотя даже искусственное доопыление фертильной пыльцой не дает 100% завязываемости семян.

ВЫВОДЫ

1. Для большинства родов подсемейства *Lamioideae* L. (*Melissa* L., *Mentha* L., *Origanum* L., *Salvia* L., *Thymus* L.) характерен трехклеточный мужской гаметофит с 1-3 бороздами на поверхности экзины, что свидетельствует об их эволюционном совершенстве.
2. Установлено, что в пределах подсемейства *Lamioideae* L. по форме различают два вида пыльцевых зерен: округлые и эллипсоидальные, а размеры колеблются в диапазоне от $3,5 \pm 0,2$ до $8,5 \pm 0,3$ мкм.
3. Определено, что при обычных условиях хранения, у *Salvia sclarea* L. пыльца сохраняет свою жизнеспособность в течении 10 суток, а у *Mentha aquatica* L. – в течении 12 суток.
4. Наибольшее количество пыльцевых трубок у *Salvia sclarea* L. прорастает из пыльцы хранившейся 4 суток, а у *Mentha aquatica* L. – 8 суток.
5. Искусственное доопыление увеличивает завязываемость семян у *Mentha aquatica* L. в 1,5 – 2 раза, а у *Salvia sclarea* L. в 2 – 6 раз.

Список литературы

1. Батыгина Т.Б. Эмбриология цветковых растений. – С–Пб.: Мир и семья, 2000. – Т.1. – 510 с.
2. Поддубная-Арнольди В.А. Характеристика семейств покрытосеменных растений по цитозембриологическим признакам. – М.: Наука. 1982. – 350 с.
3. Адмиральская С.А. Стерильность мяты перечной и ее преодоление. – Л.: БИН, 1960. – 17 с.
4. Бугаенко Л.А., Резникова С.А. Дикорастущие виды мяты как исходный материал для селекции // Труды ВНИИЭМК. – Симферополь: ВНИИЭМК, 1984. – Т. 16. – С. 46–52.
5. Юрцева Н.С. Некоторые причины незавязываемости семян у шалфея лекарственного // Сборник научных трудов ВНИИ лекарственных растений. – Краснодар: ВНИИЛК, 1970. – Вып. 2. – С. 141–148.
6. Полішук В.С. Ембріологічні дослідження шавлії лікарської та шавлії мускатної // Укр. ботан. журн.– 1981. –Т.29, №1. – С. 25–30.
7. Шевченко С.В., Денисова Г.А. Данные по морфологии и анатомии шалфея мускатного // Растительные ресурсы. – 1984. – Т.6, Вып. 4. – С. 610–615.
8. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. Основы микротехнических исследований в ботанике. – М.: Наука, 2000. – С.156–162.
9. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос. 1970. – 255с.

*Лисякова Н.Ю., Сімагіна Н.О. Цитоморфологічні особливості чоловічого гаметофіту в підродині **Lamioideae** L. // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С.46-53.*

Досліджені цитозембріологічні особливості сімейства *Lamiaceae* L. Встановлена структура чоловічого гаметофіту і визначені морфометричні показники пилоквих зерен 20 видів з 7 родів підродини *Lamioideae* L. Виявлена видова специфічність форми пилоквих зерен у видів роду *Salvia* L. Визначені терміни збереження життєздатності пилоквих зерен, а також залежність між кількістю проростаючих пилоквих зерен і кількістю насіння, що зав'язується.

Ключові слова: чоловічий гаметофіт, фертильність, життєздатність пилку

*Lysyakova N.Yu., Simagina N.O. Cytoembriological features of masculine hametophyte in the subfamily of **Lamioideae** L. // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 46-53.*

The cytoembriological features of family of *Lamiaceae* L. are investigated. The structure of masculine hametophyte is revealed and the morphometric indexes of pollen corns of 20 species and 7 genus of subfamily of *Lamioideae* L. are certain. Specificity of form of pollen corns at the species of genus *Salvia* L. is exposed. The terms of maintainance of viability of pollen corns, and also dependence between the amount of germinating pollen corns and amount of the strung seeds are certain

Keywords: masculine hametophyte, fecundity, viability of pollen

Поступила в редакцію 20.10.2007 г.

УДК 591.1: 615.849.11

ПРИМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ КЛЕТОК ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДАЗЫ В НЕЙТРОФИЛАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС

Махонина М.М., Чуюн Е.Н., Журавлева Л.В.

Показано, что применение морфометрического анализа изображений клеток крови позволяет получить целый спектр признаков: оптическую плотность, площадь активной цитоплазмы, количественный показатель содержания, показатели формы клеток, построить гистограммы распределения активности того или иного включения. Тогда как использование критерия L.S. Karlow позволяет вычислить цитохимический показатель содержания пероксидазы в нейтрофилах крови, который сопоставим только с площадью активной цитоплазмы, однако изменение функциональной активности клеток периферической крови, при различных экспериментальных воздействиях, зависит, в том числе, от оптической плотности. Таким образом, морфометрический анализ изображений клеток периферической крови позволяет значительно повысить эффективность использования методов цитохимического анализа и получать не только качественные, но и количественные результаты исследования.

Ключевые слова: морфометрический анализ, нейтрофилы, пероксидаза

ВВЕДЕНИЕ

Медико-биологические объекты характеризуются большой сложностью и многофакторностью, что обуславливает высокие требования к надежности, точности и достоверности результатов.

Развитие современных биологических исследований базируется на совершенствовании методических подходов. Последние десятилетия развития биологии и медицины характеризуются расширением применения принципов и методов смежных наук, широко использующих математические и количественные методы исследований.

Наиболее адекватными в оценке функционального состояния форменных элементов крови являются цитохимические методы, поскольку биохимическое исследование периферической крови весьма затруднено в связи со сложностью выделения клеток из крови. Методы количественного цитохимического исследования или цитоспектрофотометрии, основанные, на фотометрии требуют применения соответствующих приборов, которые достаточно сложны в использовании и дороги.

Однако цитохимические методы имеют определенные недостатки, связанные, во-первых, с большой трудоемкостью количественной оценки результатов. Во-

ПРИМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ

вторых, эти методы являются полуколичественными, следовательно, для них характерна большая погрешность измерения из-за значительной доли субъективизма исследователя. В-третьих, они позволяют определить только цитохимический показатель содержания (ЦПС) выявляемого включения в клетке [1], тогда как большое значение для определения функциональной активности клетки могут иметь и другие показатели.

Поэтому значительный интерес представляет автоматизированная обработка результатов цитохимических реакций.

В связи с этим целью данной работы явилось обоснование метода обработки результатов цитохимических реакций на примере выявления содержания пероксидазы (ПО) в нейтрофилах периферической крови крыс путем применения морфометрического анализа при исследовании цитологических препаратов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 60 беспородных белых крысах-самцах массой 120–150 г. В настоящем исследовании использовали крыс только со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью. Это связано с тем, что, согласно нашим и литературным данным [2, 3], такие животные являются преобладающими в популяции. Поэтому можно считать, что у животных этой группы развивается типичная реакция на воздействия различной природы и интенсивности.

Предварительно отобранные животные были разделены на четыре группы по 15 особей в каждой. К первой группе были отнесены животные, содержащиеся в обычных условиях вивария (биологический контроль, К). Животные второй группы подвергались изолированному воздействию ЭМИ КВЧ (КВЧ). Третью группу составили крысы, находящиеся в условиях ограничения подвижности (гипокинезия, ГК), создаваемое помещением крыс в специальные пеналы из оргстекла, в которых они находились в течение девяти дней эксперимента по 22 часа в сутки. В четвертую группу вошли животные, находившиеся в условиях ГК и одновременно подвергавшиеся воздействию ЭМИ КВЧ (КВЧ+ГК).

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось в течение девяти суток с помощью генератора “Луч. КВЧ-071” ($\lambda=7,1$ мм, плотность потока мощности $0,1$ мВт/см²) на затылочно-воротниковую область по 30 мин ежедневно в течение девяти дней.

Рассмотрим применение морфометрического метода исследований препаратов крови на примере определения пероксидазной активности нейтрофилов.

Забор крови осуществлялся путем пункции хвостовой вены крыс всех экспериментальных групп на девятые сутки эксперимента. Для выявления содержания ПО в нейтрофилах мазки крови окрашивали по методу G.S. Gracham [4] и исследовали при помощи системы морфометрического анализа. Для этого использовали комплекс, состоящий из микроскопа «Zeiss», ПЗС-видеокамеры (SK-2046), платы видеозахвата (разрешение 640x480), персональный компьютер и пакет проблемно-ориентированного программного обеспечения - морфометр «Image – Pro» (рис. 1). В каждой мазке исследовалось 45-50 нейтрофилов.

Изображение окрашенной клетки вводилось в компьютер и подвергалось цифровой обработке с помощью системы фильтров, результатом чего является

новое изображение с отсутствием искажений и помех. Затем проводилось выделение объектов и необходимые измерения. Определялись следующие показатели: площадь клетки (S), площадь активной (окрашенной) цитоплазмы (Sa), ее оптическая плотность (OD). Оптическая плотность окрашенной части цитоплазмы соответствует степени окраски, измеряется в условных единицах и находится в диапазоне значений от 0 до 1 усл. ед.

Результирующим шагом является определение количественного показателя содержания ПО в нейтрофилах периферической крови крыс (QIC – quantity indicator of the contents):

$$QIC = OD * Sa / S$$

QIC является интегральным показателем, зависящим не только от размеров и интенсивности окрашенной части цитоплазмы, но и от размеров самой клетки, что не возможно учесть при других типах исследований.

При таком построении эксперимента возможно вычисление следующих числовых характеристик QIC: максимального и минимального значений, среднего арифметического, среднего квадратичного отклонения, значений моды, медианы, построение гистограммы распределения клеток.

Для выявления корреляционных зависимостей использовался анализ по Пирсону [5]. Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программ Microsoft Excell [6] и «Oregan Pro 7» [7].

Крыс содержали в условиях вивария при температуре 18 – 22оС на стандартном пищевом рационе и в стандартных условиях освещения (12 часов темнота: 12 часов свет). Световая фаза начиналась в 7.00 утра. Эксперименты проводились с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 2000), постановления первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001), закона Украины №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого походження» от 21.02.2006 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы показано, что достоверных различий между размерами нейтрофилов (S) у животных различных экспериментальных групп не наблюдалось (табл. 1). Вместе с тем QIC ПО нейтрофилов изменялся разнонаправлено при различных воздействиях, поскольку S одинаковая, то выявленные изменения могут быть связаны только с изменением Sa и OD.

Воздействие ЭМИ КВЧ на интактных крыс привело к тому, что QIC ПО у животных этой группы был выше на 40,14% ($p < 0,01$) относительно значений, зафиксированных у животных контрольной группы. Увеличение QIC ПО произошло за счет повышения Sa на 33,96% ($p < 0,001$) и OD на 10,99% ($p < 0,05$), что свидетельствует о повышении функциональной активности нейтрофилов. Увеличение QIC согласуется с результатами наших предыдущих исследований об увеличении активности бактерицидных систем нейтрофилов под действием изучаемого фактора [9-11].

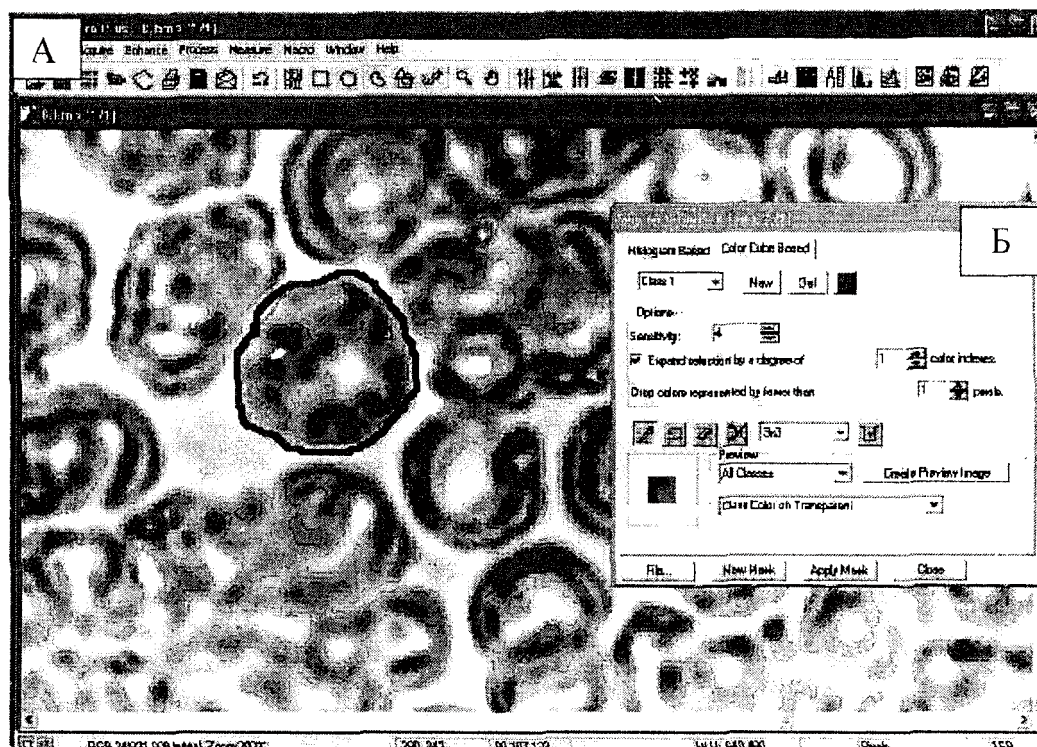


Рис.1. А – интерфейс программы «Image-Pro»; Б – процедура выделения фермента.

Таблица 1.
Значения количественного показателя содержания (QIC), оптической плотности (OD), площади активной цитоплазмы (Sa) пероксидазы сегментоядерных нейтрофилов периферической крови крыс контрольной группы (К) и при воздействиях ЭМИ КВЧ (КВЧ), гипокинезии (ГК), их комбинации (ГК+КВЧ) на девятые сутки эксперимента ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Группа	№ группы	S, мкм ²	Sa, мкм ²	OD, усл. ед	QIC, усл.ед.
К (n=15)	1	373,00±26,54	165,94±5,99	0,53±0,02	0,24±0,01
КВЧ (n=15)	2	394,25±16,59	222,29±4,39 p _{1,2} <0,001	0,58±0,02 p _{1,2} <0,05	0,33±0,03 p _{1,2} <0,01
ГК (n=15)	3	369,89±35,30	130,69±3,23 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,001	0,47±0,02 p _{1,3} <0,05 p _{2,3} <0,001	0,17±0,02 p _{1,3} <0,01 p _{2,3} <0,001
ГК+КВЧ (n=15)	4	346,77±33,83	146,66±5,91 p _{1,4} <0,05 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,05	0,53±0,01 p _{2,4} <0,01 p _{3,4} <0,01	0,23±0,01 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,01

Примечание: p_{1,4} - достоверность различий при сравнении с данными групп, обозначенными в таблице 1-4 соответственно

Известно, что система ПО в нейтрофилах образует мощную антибактериальную систему, эффект которой по силе значительно превышает соответствующий эффект составляющих ее компонентов [12]. ПО вместе со своим субстратом перекисью водорода формирует фермент-субстратный комплекс, который окисляет ионы галогена (йод, хлор, бром) и образует агенты, обладающие высокой реакционной способностью [13]. Эта система высокоактивна против грибов, вирусов, микоплазм. Таким образом, под влиянием ЭМИ КВЧ увеличивается активность одной из важнейших бактерицидных систем нейтрофилов, которая обеспечивает подавление активности фагоцитированных бактерий, подготавливая их к дальнейшему расщеплению [14].

При анализе гистограмм распределения клеток по значениям QIC в контрольной группе крыс и группах животных с экспериментальными воздействиями (рис. 2) выявлено, что у контрольных животных и у животных, подвергнутых КВЧ-воздействию, гистограммы были многомодальные, причем, у животных, находящихся под влиянием ЭМИ КВЧ наблюдался сдвиг гистограммы в сторону увеличения абсолютных значений QIC.

Ограничение двигательной активности крыс привело к снижению QIC ПО на 28,88% ($p < 0,01$), что связано со снижением как Sa на 21,25% ($p < 0,001$), так и OD на 11,28% ($p < 0,05$) относительно значений, зарегистрированных в первой группе крыс (К) (табл. 1).

Полученные результаты согласуются с нашими и литературными данными об изменении ЦПС ПО в нейтрофилах под влиянием экспериментальной вызванной стресс-реакции [9-11].

В случае, когда падает активность основной бактерицидной системы нейтрофилов, активность фагоцитированных бактерий если и подавляется, то значительно меньше, чем у интактных животных. Очевидно, что такие бактерии не могут быть доступны действию протеаз, которые способны расщеплять в фаголизосоме нейтрофила только те бактерии, которые были умерщвлены системой ПО, ферментными катионными, лизоцимом, лактоферрином и не влияют на живые, жизнеспособные структуры [14].

У животных, находящихся в условиях изолированного ограничения подвижности, наблюдалось мономодальное распределение QIC ПО, а сдвиг гистограммы распределения в сторону уменьшения абсолютных значений был явно выражен.

Повышение QIC ПО при действии ЭМИ КВЧ на гипокинезированных животных согласуется с изменением ЦПС ПО при тех же экспериментальных воздействиях [9-11]. У животных, подвергавшихся комбинированному действию ЭМИ КВЧ и ГК, не выявлено изменений изученных показателей, характерных для ГК стресса, что свидетельствует о нормализации изученного показателя. Уровень QIC ПО достоверно отличался от значений у гипокинезированных животных (133,24%, $p < 0,01$). Рост этого показателя связан с увеличением Sa на 11,46% ($p < 0,05$) и OD на 12,89% ($p < 0,01$) относительно значений у крыс третьей группы (ГК).

ПРИМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ

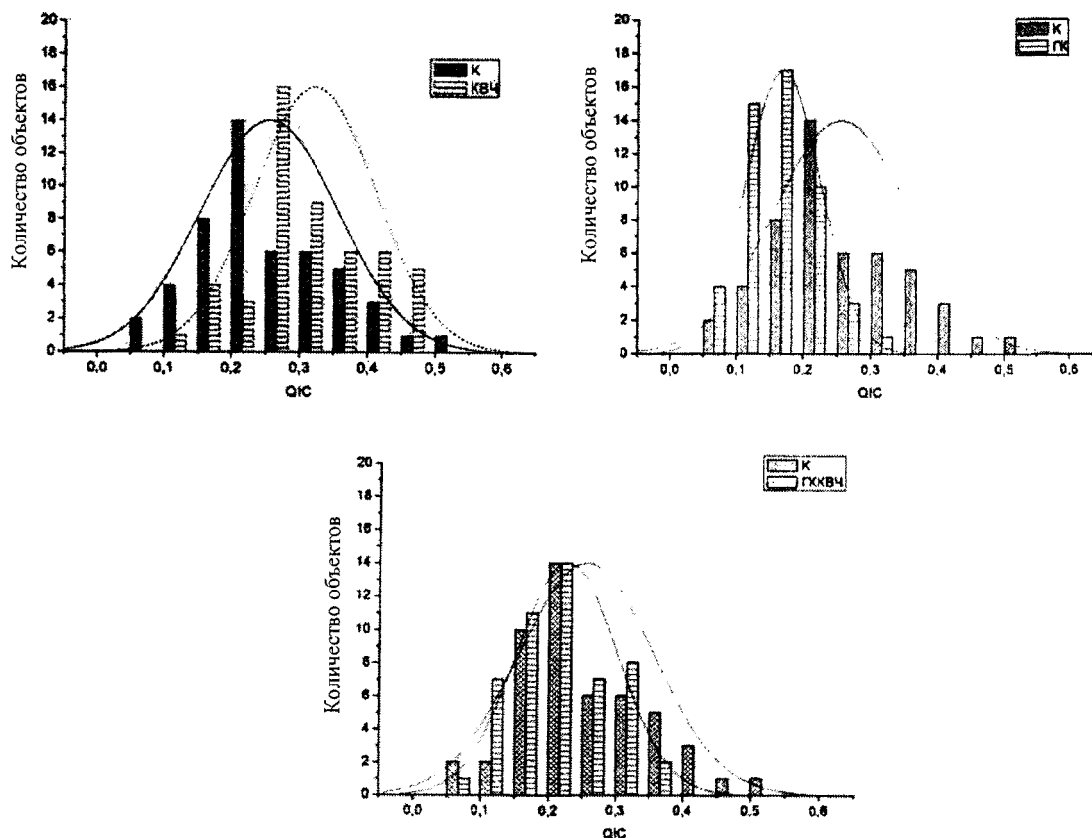


Рис. 2. Гистограммы распределения значений количественного показателя содержания пероксидазы сегментоядерных нейтрофилов крови у животных контрольной группы (К) и при воздействиях ЭМИ КВЧ (КВЧ), гипокинезии (ГК), их комбинации (ГК+КВЧ) на девятые сутки эксперимента.

В группах животных, находящихся в условиях комбинированного с ЭМИ КВЧ экспериментально вызванной ГК, гистограммы были многомодальными, а сдвига гистограммы, характерного для гипокинетического стресса, не наблюдалось и присутствовало лишь некоторое ее уширение.

Одномодальность гистограмм распределения количественного показателя содержания ПО при действии ГК может быть неблагоприятным прогностическим признаком [15].

Таким образом, как изолированное, так и комбинированное с ГК действие ЭМИ КВЧ привело к увеличению функциональной активности нейтрофилов крови крыс. Из полученных результатов видно, что в определении QIC у животных, находящихся в условиях изолированного и комбинированного с ЭМИ КВЧ ограничения подвижности, значительную роль играло изменение OD, тогда как при вычислении ЦПС по принципу L.S. Karlow учитывается только значение Sa, а

изменение OD не регистрируется. При этом QIC ПО с высокой степенью достоверности коррелирует с ЦПС ПО изученного показателя ($r=0,97$, $p<0,05$).

В большинстве случаев на разницу QIC между группами животных, подвергнутых различным воздействиям влияли изменение и Sa, и OD, следовательно, диапазон изменений QIC был более широким, чем при определении ЦПС изучаемого показателя. Следовательно при помощи морфометрического анализа есть возможность фиксировать более тонкие изменения показателей функциональной активности лейкоцитов, что немаловажно при изучении влияния низкоинтенсивных факторов.

ВЫВОДЫ

1. Способ морфометрического анализа изображений клеток периферической крови позволяет значительно повысить эффективность использования методов цитохимического анализа и получать не только качественные, но и количественные результаты исследования.
2. Изолированное действие ЭМИ КВЧ на интактных животных проявилось в достоверном увеличении количественного показателя содержания ПО на 40% ($p<0,05$) относительно значений этого показателя в контрольной группе животных, что свидетельствует о повышении бактерицидной активности нейтрофилов.
3. Под влиянием девятисуточной ГК произошло уменьшение количественного показателя содержания ПО на 29% ($p<0,02$) относительно значений этого показателя в контрольной группе. Уменьшение этого параметра происходило в большей степени за счет снижения оптической плотности окрашенной части цитоплазмы нейтрофилов.
4. Комбинированное воздействие ЭМИ КВЧ и гипокинезии вызвало достоверное повышение количественного показателя содержания пероксидазы относительно такового у животных, также находившихся в условиях гипокинезии, но дополнительно не подвергавшихся действию ЭМИ КВЧ на 33% ($p<0,05$).

Список литературы

1. Kaplow L.S. Cytochemistry of leukocyte alkaline phosphatase: use of complex naphthol AS phosphate in aza dye coupling technics // Am. J. Clin. Pathol. – 1963. – Vol. 39. – P. 439-449.
2. Сантана Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / СГУ. – Симферополь, 1991. – 21 с.
3. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис...канд. биол. наук: 03.00.13 / СГУ. – Симферополь, 1992. – 25 с.
4. Клиническая цитохимия / под ред. А.В.Ягоды, Н.А.Локтева; Ставропольская государственная мед. академия. – Ставрополь: СтГМА, 2005. – 485 с.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Модмон, 2000. – 319 с.

ПРИМЕНЕНИЕ MORFOMETRICHESKOGO ANALIZA IZOBRAZENIY

7. Полулях С.Н., Пакеты прикладных программ в физике. Симферополь. Пирамида-Крым, 1998, 104 с.
8. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 № 3447-IV // Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – С. 990.
9. Чуян Е.Н. Нейроімуноендокринні механізми адаптації до дії низько інтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти // Автореф. дис... докт. біол. наук. – Київ, 2004. – 40 с.
10. Верко Н.П. Функциональная активность нейтрофилов крови крыс при развитии адаптационных реакций различного типа Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / ТНУ – Симферополь, 2003. – 20 с.
11. Махонина М.М. Биологическое действие электромагнитного излучения крайне высокой частоты в условиях блокады опиоидных рецепторов. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.02 / ТНУ – Симферополь, 2007. – 24 с.
12. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. – М.: Медицина, 1978. – 128 с.
13. Бахов И.И., Александрова Л.З., Гитов В.Н. Роль нейтрофилов в регуляции метаболизма тканей (обзор литературы) // Лабораторное дело. – 1988. – № 6. – С. 3-12.
14. Прийма О.Б. Зміна вмісту неферментних катіонних білків та ступеня пошкодження лейкоцитів у кролів при кровотраті // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 6. – С. 50-54.
15. Макулова Т.Г. Анализ активности пероксидазы сегментоядерных нейтрофилов на ЭВМ с цифровой обработкой изображений // Кл. лаб. диагностика. – 1994. – № 4. – С. 21-25.

Махоніна М.М., Чуян О.М., Журавлева Л.В. Застосування морфометричного аналізу зображень клітин для кількісної характеристики змісту пероксидази в нейтрофілах периферичної крові щурів // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 54-61.

Показане, що застосування морфометричного аналізу зображень клітин крові дозволяє одержати цілий спектр ознак: оптичну щільність, площу активної цитоплазми, кількісний показник змісту, показники форми клітин, побудувати гистограми розподілу активності того або іншого включення. Тоді як використання критерію L.S. Kaplow дозволяє обчислити цитохімічний показник змісту пероксидази в нейтрофілах крові, який зіставимо тільки із площею активної цитоплазми, однак зміна функціональної активності клітин периферичної крові, при різних експериментальних впливах, залежить, у тому числі, від оптичної щільності.

Таким чином, морфометричний аналіз зображень клітин периферичної крові дозволяє значно підвищити ефективність використання методів цитохімічного аналізу й одержувати не тільки якісні, але й кількісні результати дослідження.

Ключові слова: морфометричний аналіз, нейтрофіли, пероксидаза

Makhonina M.M., Chuyan E.N., Juravleva L.V. Morphometrical analysis application of blood cells images to quantity characteristics of contents peroxidase in peripheral blood neutrophiles // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 54-61.

It is shown, that application morphometrical analysis of blood cells images allows to receive the whole spectrum of attributes: optical density, the area of active cytoplasm, a quantity indicator of contents, form parameters of cells, to construct histograms of activity distribution of inclusion. Whereas use of criterion L.S. Kaplow allows to calculate cytochemical parameter of the contents peroxidase in blood neutrophiles which is comparable only to the area of active cytoplasm, however change of functional activity of peripheral blood cells, at various experimental influences, depends, including, from optical density.

Thus, morphometrical analysis of peripheral blood cells images allows to raise considerably efficiency of use of cytochemical analysis methods and to receive not only qualitative, but also quantitative results of research.

Keywords: morphometrical analysis, neutrophiles, peroxidase

Поступила в редакцію 12.07.2007 г.

УДК 578.23

РАННИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В РАЗВИТИИ ЗАРАЖЕННЫХ ВИРУСОМ ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА ГУСЕНИЦ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА III-ГО ВОЗРАСТА

Оберемок В.В.

Исследованы ранние неспецифические нарушения в развитии зараженных вирусом ядерного полиэдроза гусениц непарного шелкопряда. Найдены численные значения замедления развития и потери веса зараженных вирусом гусениц, которые происходят в течение III-го личиночного возраста.

Ключевые слова: вирус ядерного полиэдроза непарного шелкопряда, неспецифический адаптационный синдром.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусы насекомых различаются между собой характерными чертами патогенеза особей хозяина [1, 2]. Однако имеется ряд характерных признаков для течения любой вирусной инфекции насекомых: замедленность движений, изменение окраски и состояния покровов насекомых, снижение аппетита [2, 3], потеря в весе, замедленное развитие. Это так называемые неспецифические изменения метаболизма, возникающие при адаптационном синдроме [4]. Проявление данных изменений начинается уже на ранних этапах развития вирусной инфекции. Интенсивность их проявления зависит от вида вируса и его генотипа с одной стороны и от вида насекомого и его генотипа с другой. В литературе нами не было найдено данных, описывающих ранние неспецифические нарушения в развитии зараженных вирусом ядерного полиэдроза гусениц непарного шелкопряда, такие как замедленное развитие и потеря в весе, которые происходят в течение одного личиночного возраста.

Целью нашего исследования явилось изучение ранних неспецифических нарушений (замедление развития и потеря в весе) в развитии зараженных вирусом ядерного полиэдроза гусениц непарного шелкопряда, которые происходят в течение III-го личиночного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходным материалом для лабораторных экспериментов по влиянию вируса на развитие гусениц непарного шелкопряда послужила одна яйцекладка, найденная в Белогорском районе осенью 2003 г. Вышедшие из яйцекладки гусеницы до III личиночного возраста содержались совместно, а затем каждая гусеница была помещена в отдельную пробирку. Среди гусениц III личиночного возраста вирусные

РАННИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В РАЗВИТИИ

полиэдры встречались у 45% особей. Для содержания всех гусениц в лаборатории использовали одну и ту же питательную среду [5]. Дозы соблюдали путем внесения в питательную среду вирусного препарата с известным титром полиэдров, который определяли в растворе с помощью фазово-контрастного микроскопа. Каждой голодной гусенице давали небольшую навеску корма (1 мг), которую они съедали полностью, благодаря чему достигалось попадание достаточно точного количества вирусных частиц в кишечник каждой отдельной гусеницы. Каждая личинка получила дозу вируса в 10^4 полиэдров промышленного препарата «ВИРИН-НШ» («Укрлісозахист», пгт Покотиловка). Гусениц III личиночного возраста заражали на 2-3 день после линьки. Взвешивание особей непарного шелкопряда проводили с помощью торсионных весов типа ВТ до 500 мг. Статистическую обработку данных проводили по Рокицкому [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 48 особей контрольной группы до IV личиночной стадии развития дожили 38 особей (79.2%), а из 30 особей опыта – 16 (53.3%). Средняя продолжительность развития до IV личиночной стадии у особей из контрольной группы составила 12 дней, а особей из опыта – 14.3 дня. Замедление развития особей из опыта объясняется, по-видимому, тем, что вирусная ДНК содержит *egt*- ген, кодирующий экдистероидгликозилтрансферазу [7]. Этот фермент блокирует у насекомых линьку и окукливание путем присоединения сахаров к гормону экдизону [8, 9] (рис. 1). Воздействие экдизонов на живые клетки усиливает синтез белков и нуклеиновых кислот. Во время развития насекомых наблюдаются значительные изменения содержания экдизона и экдистерона, протекающие сопряжено с периодами линек. Хотя экдизоны обнаруживаются на всех стадиях, включая взрослых самок, их содержание в гемолимфе резко увеличивается перед линькой и падает после того, как в покровах проявляются первые симптомы наступающей линьки [10]. Этот феномен, по-видимому, можно объяснить тем, что для репродукции вируса необходимы умеренные концентрации экдизона. Возможно, что экдизон-зависимое функционирование систем роста и деления клеток непарного шелкопряда подавляет систему репродукции вируса. Это приводит к необходимости модификации молекул экдизона вирусом. Интересным является факт, что особи из опыта, которые не достигли IV личиночной стадии развития, прожили на 3.9 дня дольше (16.4 дня), чем особи из контроля (12.5 дня) ($P > 0.1$, $t = 1.74$). Этот факт можно объяснить тем, что бакуловирусы обладают двумя классами антиапоптозных генов, *p35* и *iap*-гены, которые могут блокировать апоптоз развитием вирусной инфекции или различными сигналами индукции у филогенетически широкого круга организмов [11, 12, 13]. По-видимому, такие антиапоптозные гены позволяют вирусу до конца использовать вещественные и энергетические ресурсы клетки для своей репродукции. Такое полное использование ресурсов клетки необходимо вирусу в связи с пассивностью распространения вирусных полиэдров. Большее количество вирусных полиэдров увеличивает вероятность горизонтальной передачи вируса.

Из рис. 1. видно, что вирус увеличивает продолжительность жизни зараженных особей по сравнению с контролем, но при этом в опыте увеличивается количество

погибших гусениц, не достигших IV личиночной стадии развития (в 2.2 раза). Нормальное развитие зависит от очень точного равновесия между соответствующими дозами специфических генных продуктов [14]. По-видимому, репродукция вируса нарушает его своими генными продуктами.

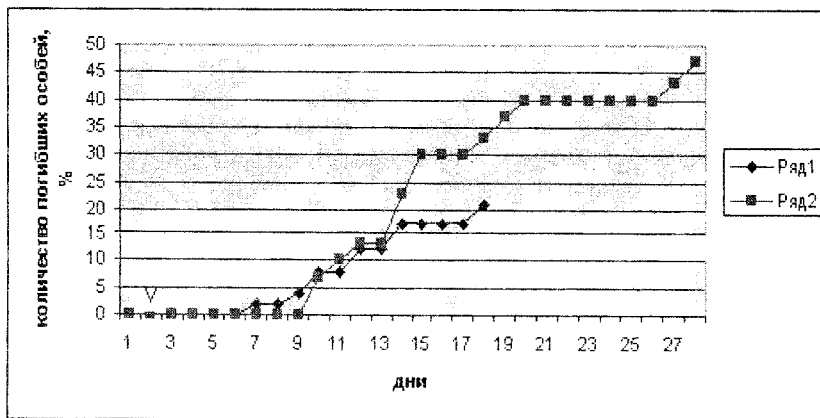


Рис. 1. Динамика смертности гусениц непарного шелкопряда на III личиночной стадии развития.

Ряд 1 – контроль; ряд 2 – опыт; V – день заражения.

Было обнаружено незначительное различие (13.3 %) в массе особей из контроля и опыта, которые дожили до IV личиночного возраста. Средняя масса гусениц за 1-2 дня до линьки составила у особей из контрольной группы 27.8 мг, а у особей из опыта – 24.1 мг. Данный факт можно объяснить тем, что зараженные гусеницы перестают питаться (или снижают интенсивность своего питания – примечание автора) [2, 3]. Кроме этого, зараженной вирусом гусенице необходимо больше энергии для жизни, чем здоровой, что объясняется дополнительными энергозатратами на репродукцию вируса.

ВЫВОД

В течение III-го личиночного возраста успевают обнаружиться первые неспецифические нарушения в развитии зараженных вирусом гусениц непарного шелкопряда. Одними из таких нарушений являются замедленное развитие гусениц (на 2.3 дня) и потеря в весе (на 13.3 %).

Список литературы

1. Тарасевич Л.М. Вирусы насекомых. – М.: Наука, 1975. – 245 с.
2. Гулий В.В., Рыбина С.Ю. Вирусные болезни насекомых и их диагностика. – Кишинев, 1988. – 187 с.
3. Бахвалов С.А. Вирозы насекомых // В кн.: Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / Под ред. В.В. Глупова. – М.: Круглый год, 2001. – 736 с.

РАННИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В РАЗВИТИИ

4. Браун А.Д., Моженко Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука, 1987. – 232 с.
6. Зиновьева Л.А., Захарченко И.С. Биологические методы борьбы с вредителями растений. – Рига: Зипатия, 1968. – С. 17– 20.
7. Рокицкий П. Ф., Биологическая статистика. – Минск: Высшейш. шк., 1973. 320 с.
8. Slavicek J. M., Popham H.J.R., Riegel C.I. Deletion of the *Lymantria dispar* multicapsid nucleopolyhedrovirus ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene enhances viralkillingspeed in the last instar of the gypsy moth // Biol. Control. – 1999. – V. 16. – P. 91–103.
9. O'Reilly, D.R., Miller, L.K. A baculovirus blocks insect molting by producing ecdysteroid UDP-glucosyltransferase // Science – 1989. – V. 245. – P. 1110–1112.
1. 9. Shikata M., Shibata H., Sakurai M., Sano Y., Hashimoto Y., Matsumoto T. The ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus alters the molting and metamorphosis of a non-target insect, the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae) // J. Gen. Virol. – 1998. – V.76. – P. 1547–1551.
10. Тыщенко В.П. Физиология насекомых. – М: Высш. шк., 1986. – 330 с.
11. Miller L.K. The Baculoviruses. – New York, Plenum Press, 1997. – 447 p.
12. Bertin J., Mendrysa S.M., LaCount D.J., Gaur S., Krebs J.F., Armstrong R.C., Tomaselli K.J., Friesen P.D. Apoptotic supression by baculovirus P35 involves cleavage by and inhibition of a virus induced CED – 3/ICE-like protease // J. Virol. – 1996. –V. 70. – P. 6251–6259.
13. Manji G.A., Hozar R.R., LaCount D.J., Friesen P.D. Baculovirus inhibitor of apoptosis functions at or upstream of the apoptotic supressor P35 to prevent programmed cell death // J. Virol. – 1997. –V.71. – P. 4509–4516.
14. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. – М.: Мир, 1974. – 460 с.

Оберемок В.В. Ранні неспецифічні порушення у розвитку заражених вірусом ядерного поліедрозу гусениць непарного шовкопряду III-го віку // // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 62-65.

Досліджено ранні неспецифічні порушення у розвитку заражених вірусом ядерного поліедрозу гусениць непарного шовкопряду. Знайдено чисельні значення уповільнення розвитку та втрати ваги заражених вірусом гусениць, які відбуваються впродовж III-го личиночного віку.

Ключові слова: вірус ядерного поліедрозу непарного шовкопряду, неспецифічний адаптаційний синдром.

Oberemok V.V. Early non-specific breaches in development of III instar gypsy moth caterpillars infected with *Lymantria dispar* Nucleopolyhedrovirus // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 62-65.

Early non-specific breeches in development of gypsy moth caterpillars infected with *Lymantria dispar* Nucleopolyhedrovirus are investigated. Numeral indexes of slowing-down of development and loss of weight of infected III instar gypsy moth caterpillars are found.

Keywords: Lymantria dispar Nucleopolyhedrovirus, non-specific adaptional syndrome.

Поступила в редакцію 20.10.2007 г.

УДК 612.825; 616:613.6

ОСОБЕННОСТИ ПАТТЕРНА ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ У КЛИЕНТОВ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ

Павленко О.М.

Показано, что для клиентов психологического консультирования характерно снижение относительной амплитуды дельта- и тета-ритмов и повышение – бета₁- и бета₂-ритмов, повышенная медианная частота ЭЭГ.

Ключевые слова: мозг, психологическое консультирование, ЭЭГ-потенциалы.

ВВЕДЕНИЕ

С давних времен, испытывая дискомфорт или тревогу, люди обращались к окружающим за помощью или советом. Чаще всего это были люди из ближайшего окружения: мудрый родственник, верный друг, знающий сосед. Иногда они шли к тем, кто был экспертом по врачеванию больного духа – к священнику или доктору. Только сравнительно недавно, в начале двадцатого века, появились профессионалы, помогающие тем, кто не может самостоятельно справиться с жизненными трудностями. Мы живем в динамическом и высокотехнологичном мире, где нагрузки на психику человека постоянно увеличиваются. Многие теряют ощущение социальной стабильности, живут изолированной жизнью и не получают необходимой эмоциональной поддержки. Для таких людей обращение к психологу за помощью является жизненной необходимостью [1].

Психика человека, на которую направлено воздействие психолога-консультанта – это сложная система для приема информации из окружающей среды, ее синтеза и планирования действий на основе этого синтеза. В основе работы психики лежат нейро- и психофизиологические процессы. Можно предположить, что проблемы развития или ситуационные трудности у клиентов либо связаны с нарушением нейро- и психофизиологических процессов, либо влияют на их протекание. В обоих случаях логично ожидать определенных изменений в паттерне электроэнцефалограммы (ЭЭГ) клиентов психологического консультирования, объективно отражающих функциональное состояние ЦНС человека. Анализ таких изменений позволил бы лучше понять природу нейрофизиологических эффектов процесса консультирования, однако исследования в этой области практически отсутствуют (см. обзор [2]).

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы была оценка особенностей амплитудно-частотных характеристик фоновой ЭЭГ-активности людей, обращающихся за помощью к психологу-консультанту.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях приняло участие 40 женщин, студенток ВУЗов г. Симферополя. Испытуемые представляли две группы. В экспериментальную группу вошли 20 женщин, возрастом 18-30 лет, являвшихся клиентками сеансов психологического консультирования, проводимого автором данного исследования. Контрольную группу составили 20 женщин того же возраста. У испытуемых обеих групп записывали фоновую ЭЭГ в ситуации относительного покоя при закрытых и открытых глазах. У экспериментальной группы указанная запись проводилась до первого сеанса психологического консультирования. От всех участниц исследования было получено добровольное информированное согласие на регистрацию нейрофизиологических показателей.

Отведение ЭЭГ осуществлялось по общепринятой методике с компьютерного телеметрического электроэнцефалографа «Эксперт». ЭЭГ регистрировали во фронтальных (Fp1, Fp2, Fpz, F3, F4, F7, F8, Fz), центральных (C3, C4, Cz), теменных (P3, P4, Pz), височных (T3-T6) и затылочных (O1, O2, Oz) зонах мозга согласно системе 10-20.

Проводился спектральный анализ ЭЭГ с расчетом амплитуды (мкВ) в диапазонах дельта- (1,50-3,75 Гц), тета- (3,75-7,50 Гц), альфа- (7,50-12,75 Гц), бета₁- (12,75-18,75 Гц), и бета₂-ритмов (18,75-30,0 Гц). Рассчитывали также относительную амплитуду ЭЭГ, которая нормировалась по максимальному значению амплитуды ритмов ЭЭГ во всех каналах и выражалась в %. Оценивали медианную частоту спектра во всех отведениях ЭЭГ.

Соответствие распределения полученных данных нормальному закону проверяли критерием Колмогорова-Смирнова. В зависимости от вида распределения показатели ЭЭГ экспериментальной и контрольной группы сравнивали с использованием Т-критерия Стьюдента или U-теста Манна-Уитни [3, 4].

Остальные подробности методики описаны ранее [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В предыдущей работе [5] мы уже отмечали, что у многих клиентов психологического консультирования доминируют бета₁- и бета₂-ритмы. В настоящем исследовании мы сравнили амплитуду основных ритмов ЭЭГ у испытуемых, обратившихся к психологу-консультанту (экспериментальная группа) и у участниц исследования, принадлежащих к контрольной группе. Запись при закрытых глазах не выявила значимых различий между амплитудами ритмов ЭЭГ испытуемых контрольной и экспериментальной групп. Сравнение амплитуд ритмов ЭЭГ, зарегистрированной при открытых глазах, выявило, что в этой ситуации у испытуемых экспериментальной группы амплитуды основных ритмов ЭЭГ ниже, чем у контрольной группы. Особенно значимы эти различия для амплитуд тета- и альфа-активности. В исследованиях на животных показано, что амплитуды основных ритмов ЭЭГ, в том числе тета- и альфа-ритмов позитивно коррелирует с частотой импульсной активности стволовых аминергических нейронов [6, 7]. Логично предположить, что испытуемые экспериментальной группы,

демонстрирующие снижение амплитуд основных ритмов ЭЭГ могут иметь пониженный фон биогенных аминов, что делает их более уязвимыми при столкновении с жизненными трудностями, затрудняет процессы адаптации, увеличивает потребность в психологической поддержке. Нейрохимические исследования, выявившие гипоактивность аминергических систем у тревожных, невротичных и аутоагрессивных субъектов также свидетельствуют в пользу такого предположения [8 – 11].

Анализ относительных значений амплитуд ритмов ЭЭГ позволяет более четко оценить их взаимное соотношение, общий паттерн ритмической биоэлектрической активности неокортекса. Различия в относительной амплитуде основных ритмов ЭЭГ у испытуемых экспериментальной и контрольной групп представлены на рис. 1. Если разница положительна (показатель выше у экспериментальной группы), то столбики диаграммы отложены вверх и наоборот.

Из рисунка видно, что в подавляющем большинстве отведений относительная амплитуда низкочастотной ЭЭГ-активности (дельта- и тета-ритмов) у участниц исследования экспериментальной снижена по сравнению с контрольными показателями. Эти различия достигали уровня статистической значимости в левой префронтальной (Fp2), правой височной (T4 и T6), правой теменной (P4) областях, а также по средней саггитальной линии теменного и затылочного региона (Pz и Oz). У клиенток психологического консультирования выявляется также тенденция к снижению относительной амплитуды альфа-ритма в большинстве отведений. В то же время у испытуемых экспериментальной группы повышена относительная амплитуда высокочастотных компонентов ЭЭГ (бета1- и бета2-ритмов). Различия достигают статистической значимости по средней саггитальной линии префронтальной, фронтальной и затылочной областей (Fpz, Fz и Oz), а также во фронтальной области правого полушария. Обращают на себя внимание топические особенности ЭЭГ-активности у женщин, обратившихся к психологу-консультанту. Амплитуда низкочастотных ритмов ЭЭГ у них меньше, а высокочастотных – больше над медиальными отделами и правым полушарием головного мозга.

Изменение паттерна ЭЭГ у испытуемых, обратившихся за психологической помощью, подтверждается частотным анализом. Медианная частота ритма ЭЭГ у испытуемых экспериментальной группы была в большинстве случаев выше, чем у участниц исследования из контрольной группы. Особенно характерным был указанный феномен в условиях регистрации ЭЭГ при открытых глазах (табл. 1). В таких условиях медианная частота ЭЭГ у испытуемых экспериментальной группы статистически значимо выше, чем у участниц контрольной группы, в 16 из 21 стандартных отведений.

Анализируя полученные данные, отметим, прежде всего, снижение амплитуды низкочастотных составляющих ЭЭГ и высокую относительную выраженность бетаритмов во всех исследованных регионах и, особенно во фронтальных и медиальных областях коры у испытуемых экспериментальной группы. Согласно данным литературы последних лет [12], генерация дельта-ритма связана со снижением метаболической активности в соответствующем участке неокортекса. Повышенная генерация тета-ритма в медиальных фронтальных отведениях также отражает

ОСОБЕННОСТИ ПАТТЕРНА ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ У КЛИЕНТОВ

сниженную активацию неокортекса, поскольку указанный ритм преобладает у испытуемых с депривацией сна и сенсорного притока [13, 14]. Таким образом, выявленное снижение относительной амплитуды низкочастотных ритмов у испытуемых экспериментальной группы может свидетельствовать о состоянии повышенной активации их ЦНС.

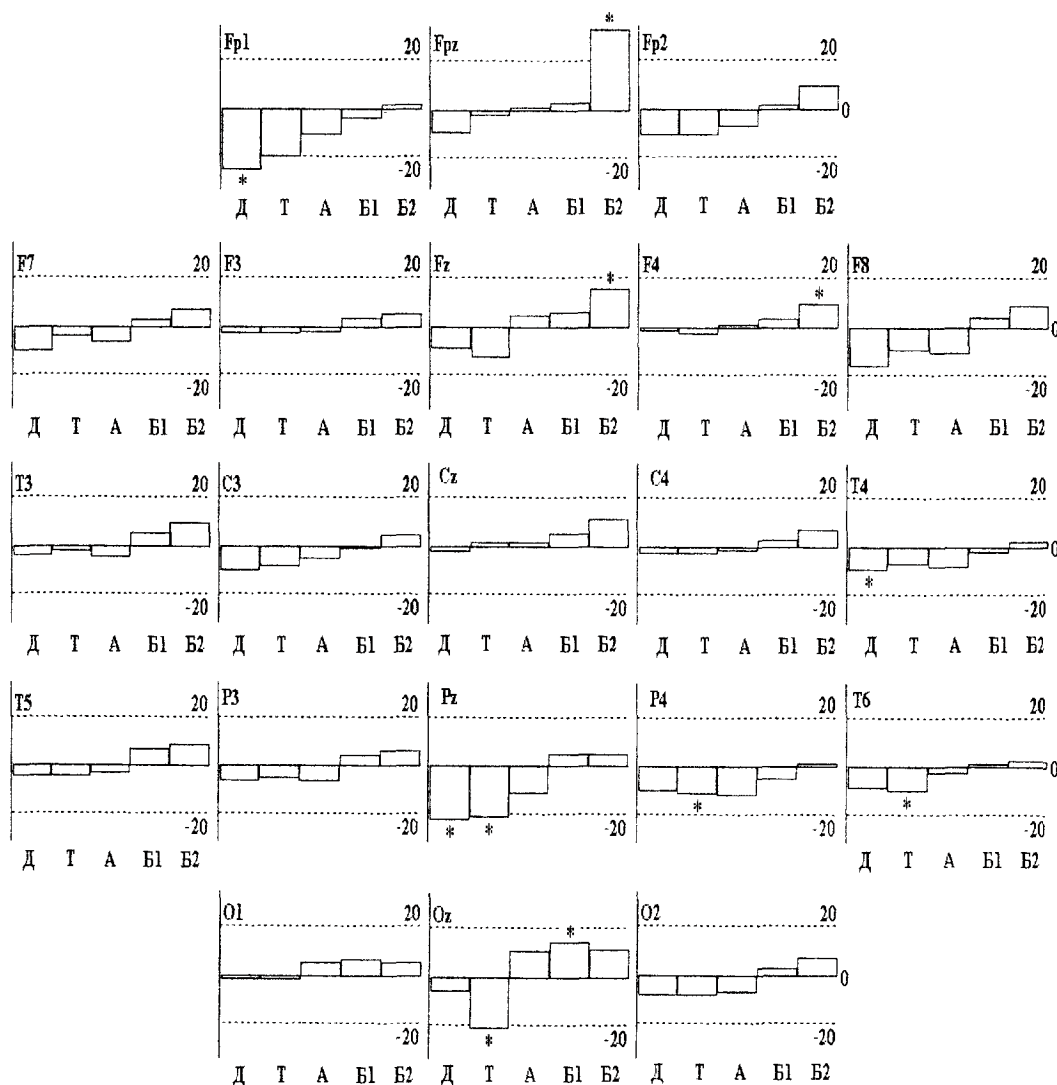


Рис. 1. Разность относительных мощностей ЭЭГ испытуемых экспериментальной и контрольной групп испытуемых.

Расположение диаграмм соответствует локусам регистрации ЭЭГ. По оси абсцисс: Д, Т, А, Б1 и Б2 – дельта-, тета-, альфа-, бета₁- и бета₂-ритмы ЭЭГ. По оси ординат: разность в относительной амплитуде ритмов, %. *- различия между показателями значимы при P < 0,05. Остальные пояснения в тексте.

Таблица 1.

Сопоставление величин медианной частоты (Гц) ЭЭГ контрольной и экспериментальной групп ($\bar{x} \pm Sx$)

Отведение	Контрольная группа	Экспериментальная группа	Достоверность различий (P)
Fp ₁	10,35±0,70	13,13±0,87	0,018
Fp ₂	10,23±0,74	13,07±1,09	0,032
Fp _z	12,56±0,66	15,12±0,66	0,034
F ₃	12,41±0,26	13,67±0,50	0,022
F ₄	12,47±0,25	14,32±0,62	0,005
F ₇	12,77±0,40	14,89±0,50	0,002
F ₈	12,44±0,46	15,13±0,55	0,001
F _z	13,70±0,35	15,02±0,66	0,099
T ₃	12,13±0,45	14,34±0,57	0,005
T ₄	11,87±0,36	13,79±0,45	0,002
C ₃	11,59±0,41	13,51±0,51	0,006
C ₄	11,65±0,35	13,29±0,49	0,009
C _z	13,29±0,31	14,32±0,50	0,097
T ₅	11,76±0,36	14,13±0,44	0,001
T ₆	11,63±0,03	13,54±0,47	0,002
P ₃	11,22±0,29	12,83±0,58	0,011
P ₄	10,99±0,36	13,08±0,66	0,007
P _z	11,51±0,52	13,68±0,35	0,002
O ₁	12,83±0,46	14,06±0,65	0,121
O ₂	12,44±0,56	13,73±0,57	0,134
O _z	14,52±0,92	15,55±0,80	0,401

Что касается бета-ритма, то установлено, что его амплитуда позитивно коррелирует с интенсивностью кровотока в префронтальной и височно-теменной корковых зонах [15]. Авторы указанного исследования приходят к выводу, что бета-активность, зарегистрированная в спокойном состоянии, является показателем спонтанных когнитивных операций.

Есть сведения [16, 17], что чрезмерно выраженный и широко распространенный по поверхности неокортекса бета-ритм связан с переживанием состояния тревоги. При переживании события, вызывающие чувство горя, бета-ритм (13.5–15.6 Гц) больше по амплитуде в лобных отделах правого полушария, по сравнению с левым [18]. Воспоминания о событиях вызывающих чувство гнева сопровождаются усилением мощности бета-ритма (13–32 Гц) в лобных и височных регионах правого полушария, а также в затылочных регионах левого полушария [19]. С другой стороны избыточно выраженная бета-активность наблюдается при медикаментозной терапии бензодиазепинами. Исходя из этого, генерацию бета-ритма связывают с активным состоянием нейромедиаторной ГАМК-системы в

ОСОБЕННОСТИ ПАТТЕРНА ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ У КЛИЕНТОВ

соответствующих регионах коры, повышением уровня активности и возбуждающих, и тормозных процессов [20].

Можно предположить, что обнаруженное в настоящем исследовании преобладание относительной амплитуды бета-ритма в лобных и центральных отделах неокортекса у женщин экспериментальной группы отражает осознание тревожащих проблем, воспоминание о негативных событиях, и в то же время, состояние принятия решения об обращении к психологу-консультанту и усиленный контроль за его исполнением.

Важным показателем оптимального функционирования неокортекса является частота ритмов ЭЭГ. Так, значение частоты доминирующего пика альфа-ритма, зарегистрированного в покое и при выполнении различных задач, коррелирует с активностью произвольного внимания, памяти и других когнитивных функций [21, 22]. Исходя из этих данных, повышение медианной частоты ЭЭГ у испытуемых экспериментальной группы свидетельствует о повышении у них уровня протекания когнитивных процессов.

Все вышеизложенное объективно указывает на специфичность нейро- и психофизиологического статуса состояния клиентов психологического консультирования. Эти люди находятся в состоянии тревоги, неуверенности, нуждаются в поддержке, однако их когнитивные процессы активированы и направлены на поиск адекватного решения стоящих перед ними проблем.

ВЫВОДЫ

1. У испытуемых, обратившихся к психологу с пожеланием пройти психологическое консультирование (экспериментальная группа), выявлен характерный паттерн ЭЭГ, в котором снижена амплитуда всех основных ритмов по сравнению с участниками исследования из контрольной группы.
2. Анализ относительной мощности ритмов ЭЭГ экспериментальной группы свидетельствует о снижении данного показателя в диапазоне дельта- и тета-ритмов и повышении относительной амплитуды ЭЭГ-активности в диапазоне бета₁- и бета₂-ритмов. Изменения относительных амплитуд ЭЭГ-ритмов больше выражены в отведениях по средней саггитальной линии и во фронтальном регионе правого полушария.
3. У испытуемых экспериментальной группы медианная частота ритма ЭЭГ была в большинстве случаев значимо выше, чем у участниц исследования из контрольной группы.
4. Предполагается, что указанный спектр ЭЭГ-потенциалов характерен для индивидов, которые находятся в состоянии тревоги, неуверенности, нуждаются в поддержке, однако их когнитивные процессы активированы и направлены на поиск адекватного решения стоящих перед ними проблем.

Список литературы

1. Файн С., Глассер П. Первичная консультация. Установление контакта и завоевание доверия. – М.: Когито-центр, 2003. – 238 с.
2. Павленко О.М. Нейробиологический подход в изучении эффектов психотерапии // Ученые

- записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2005. – Т. 18 (57), № 3. – С. 107-114.
3. Павленко О.М. Динамика ЭЭГ-потенциалов в процессе сеанса психологического консультирования // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2006. – Т. 19 (58), № 2. – С. 40-47.
 4. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 291 с.
 5. Боровиков В.П., Боровиков И.П. Statistica. – М.: “Филин”, 1997. – 608 с.
 6. Колотилова О.И., Куличенко А.М., Фокина Ю.О., Павленко В.Б., Зинченко Е.Н. Влияние стволовых структур головного мозга на паттерн массовой электрической активности бодрствующих кошек // Ученые записки ТНУ. – 2005. – Т. 18 (57), № 2. – С. 34-42.
 7. Фокина Ю.О., Куличенко А.М., Павленко В.Б. Взаимосвязь активности дофаминергических нейронов вентрального тегмента с ритмами электроэнцефалограммы // Ученые записки ТНУ. – 2006. – Т. 19 (58), № 4. – С. 195-200.
 8. Naranjo C.A., Tremblay L.K., Busto U.E. The role of the brain reward system in depression // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2001. – Vol. 25, № 4. – P. 781-823.
 9. Soubrie P. Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior // Behav. and Brain Sci. – 1986. – Vol. 9, № 2. – P. 319-363.
 10. Siegel A., Rolling T., Gregg T., Kruk M. Neuropharmacology of brain-stimulation-evoked aggression // Neuroscience and Biobehav. Rev. – 1999. – Vol. 23, № 3. – P. 359-389.
 11. Лиманский Ю.П. Морфофункциональная организация аминергических систем и их роль в моторной деятельности мозга // Успехи физиол. наук. – 1990. – Т. 21, № 2. – С. 3-17.
 12. Pizzagalli D.A., Nitschke J.B., Oakes T.R., Hendrick A.M., Horras K.A., Larson C.L., Abercrombie H.C., Davidson R.J. Brain electrical tomography in depression: the importance of symptom severity, anxiety, and melancholic features // Biol. Psychiatry. – 2002. – Vol. 52, N 2. – P. 73-85.
 13. Iwata K., Nakao M., Yamamoto M., Kimura M. Quantitative characteristics of alpha and theta EEG activities during sensory deprivation // Psychiatry Clin. Neurosci. – 2001. – Vol. 55, N 3. P. -191-192.
 14. Strijkstra A.M., Beersma D.G., Drayer B., Halbesma N., Daan S. Subjective sleepiness correlates negatively with global alpha (8-12 Hz) and positively with central frontal theta (4-8 Hz) frequencies in the human resting awake electroencephalogram // Neurosci. Lett. – 2003. – Vol. 340, N 1. – P. 17-20.
 15. Laufs H., Kleinschmidt A., Beyerle A., Eger E., Salek-Haddadi A., Preibisch C., Krakow K. EEG-correlated fMRI of human alpha activity // Neuroimage. – 2002. – Vol. 19, N 4. – P. 1463-1476.
 16. Egner T., Gruzelier J.H. Ecological validity of neurofeedback: modulation of slow wave EEG enhances musical performance // Neuroreport. – 2003. – Vol. 14, N 9. – P. 1221-1224.
 17. Украинцева Ю.В., Русалова М.Н. Некоторые черты пространственно-временной организации мозговых биопотенциалов у лиц с разным уровнем тревожности и других черт личности // Журн. Внд им. И.П.Павлова. – 2004. – Т. 54, № 3. – С. 331-339.
 18. Crawford H.J., Clarke S.W., Kitner-Triolo M. Self-generated happy and sad emotions in low and highly hypnotizable persons during waking and hypnosis: laterality and regional EEG activity differences // Int. J. Psychophysiol. – 1996. – Vol. 24, N 3. – P. 239-266.
 19. Foster P.S., Harrison D.W. The relationship between magnitude of cerebral activation and intensity of emotional arousal // Int. J. Neurosci. – 2002. – Vol. 112, N 12. – P. 1463-1477.
 20. Гнездицкий В.В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография. – Таганрог: ТРТУ, 2000. – 640 с.
 21. Angelakis E., Lubar J.F., Stathopoulou S. Electroencephalographic peak alpha frequency correlates of cognitive traits // Neurosci. Lett. – 2004. – Vol. 371, N 1. – P. 60-63.
 22. Richard C.C., Veltmeyer M.D., Hamilton R.J., Simms E., Paul R., Hermens D., Gordon E. Spontaneous alpha peak frequency predicts working memory performance across the age span // Int. J. Psychophysiol. – 2004. – Vol. 53, N 1. – P. 1-9.

ОСОБЕННОСТИ ПАТТЕРНА ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ У КЛИЕНТОВ

Павленко О.М. Особливості патерну ЕЕГ-потенціалів у клієнтів психологічного консультування // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 66-73.

Показано, що для клієнтів психологічного консультування характерно зниження відносної амплітуди дельта- і тета-ритмів та підвищення бета₁- і бета₂-ритмів, підвищена медіанна частота ЕЕГ.

Ключові слова: мозок, психотерапія, функціональна томографія, ЕЕГ-потенціали.

Pavlenko O.M. Dynamics of EEG-potentials during psychological counseling session // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 66-73.

Psychological counseling sessions occurred to render changes in brain activity which could be experimentally recorded by EEG. Major activity changes had place in frontal cortex of right hemisphere in form of beta₂- and gamma-rhythms relative power increase.

Keywords: brain, psychological counseling, EEG-potentials.

Поступила в редакцію 10.09.2007 г.

УДК 574. 9 (477.75)

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭНТОМОКОМПЛЕКСОВ В ГОРНО-ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЮГО-ЗАПАДНОГО РАЙОНА ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА

Рыбка Т.С.

Изложены результаты исследований энтомокомплексов горно-лесных экосистем юго-западного района Южного берега Крыма, с анализом их пространственной, ценотической, экоморфической и биоморфической структур.

Ключевые слова: энтомокомплекс, Южный берег Крыма, ценоморфы, экоморфы, биоморфы.

ВВЕДЕНИЕ

Комплекс насекомых – наиболее разнообразный в систематическом отношении компонент мировой фауны. Насекомые первыми из животных заселяют новые территории и последними угасают при деградации экосистем. Они первые реагируют на изменения в экосистеме, являясь наиболее информативным ее компонентом [1].

Западный район Южного берега Крыма (ЮБК) простирается от г. Айя до г. Кабель (объединяющий два подрайона, разделенных м. Ай-Тодор) представляет собой гигантский плащ подножия Главной гряды, сложенный обломочным материалом в виде осыпей, пролювиальных плащей, древними и современными оползнями. Коренные породы, представленные в основном аргиллитами, алевролитами и песчаниками, выходят на поверхность на склонах оврагов и долин рек [2, 3].

Климат района субсредиземноморский засушливый, с теплой зимой. Защищен от холодных северных ветров горами, сильно влияет море. Количество осадков до 550 мм, понижаясь в северо-восточном направлении. Осадки имеют средиземноморский характер [4, 5].

Здесь распространены высоколиственные, главным образом сосновые леса (они составляют 56% всех лесов района), а также буковые и дубовые, местами с вечнозеленым субсредиземноморским подлеском. Исключительную ценность составляют популяции единственного аборигенного вечнозеленого дерева Крыма – земляничника мелкоплодного (*Arbutus andrachne* L.) [6].

Целью стало изучение энтомокомплекса и его экологической структуры в горно-лесных экосистемах юго-западного района Южного берега Крыма с учетом влияния высоты над уровнем моря на распределение насекомых.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на протяжении 2003 – 2007 годов в различных природно-климатических зонах юго-западного района ЮБК, на различных высотах над уровнем моря. В качестве объекта исследования был выбран энтомокомплекс, в который вошли три отряда – чешуекрылые (Lepidoptera), перепончатокрылые (Hymenoptera) и жесткокрылые (Coleoptera). Сбор материала и изучение фауны насекомых осуществлялись общепринятыми методами энтомологических исследований [7-11]: энтомологическое кошение по травянистой растительности, почвенные ловушки, ручной сбор, и отлов при помощи энтомологических сачков. Кроме того, были использованы материалы фондовой коллекции Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Это главным образом сборы И. В. Мальцева, М. М. Эйдельберга, А. Ф. Бартеньева и других энтомологов, которые в разные годы проводили энтомологические исследования на Южном берегу Крыма. Общий объем проанализированного материала составил 3000 коллекционных экземпляров.

При описании экологической структуры энтомокомплекса, за основу были взяты классификации А.Л. Бельгарда [12], Л.Г. Апостолова [13] и С.Ю. Грюнталя [14]. Характер корреляционных связей между численностью насекомых и высотой над уровнем моря, показали при помощи регрессионного анализа [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности геологического строения, климата и состава растительности обуславливают особенности формирования энтомокомплекса в горно-лесных экосистемах Южного берега Крыма. В состав, которого, вошло 410 видов наземных насекомых, из которых отряд Lepidoptera составил – 143 вида, Hymenoptera – 13 видов и Coleoptera – 254 вида [16, 17].

Одним из факторов воздействующих на формирование численности видов насекомых в горно-лесных экосистемах Южнобережья [18], является высота над уровнем моря, которая влияет на изменение микроклиматических показателей района и, следовательно, на количественное состояние энтомокомплекса (рис. 1).

На данном рисунке представлена линия регрессии между высотой над уровнем моря и количеством видов насекомых в пределах изучаемого района. Как видно из диаграммы рассеивания зависимость имеет четко выраженный линейный характер. Подавляющее большинство точек находится в пределах доверительного интервала. Корреляция отрицательная высокая $r = -0,83$, при этом показатель детерминации составляет 68,89%, что говорит о тесной связи между переменными.

Lepidoptera. Доля транспалеарктических видов отряда в юго-западном районе ЮБК, составила 29,7%, от общего числа видов отряда Lepidoptera (рис. 2). Меньшую долю составили западнопалеарктические виды 21,2%: *Panchrysia aurea* Hubner, *Acrionicta aceris* Linnaeus, *Pontia daplidice* Linnaeus, *Carcharodus lavatherae* Esper и др. И общеевропейские - 19,1%: *Polyommatus icarus* Rottemburg, *Plebeius argyrognomon* Bergstr., *Glaucopsyche alexis* Poda, *Cupido osiris* Meigen, и др.

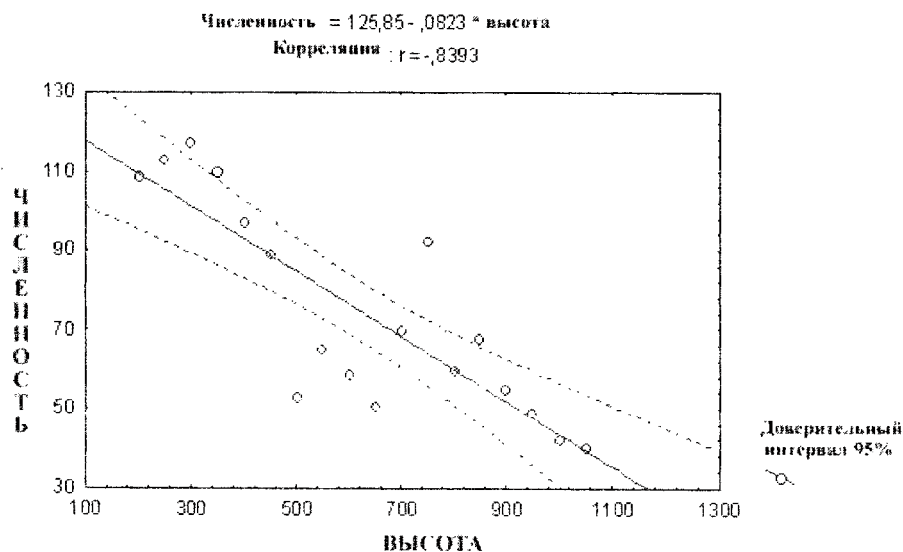


Рис. 1. Линия регрессии численности видов насекомых от высоты над уровнем моря.

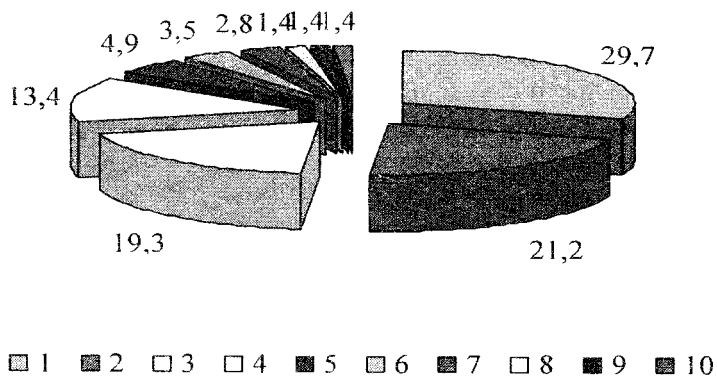


Рис. 2. Соотношение зоогеографических групп отряда Lepidoptera для юго-западного района ЮБК (%): 1 – транспалеарктические виды, 2 – западнопалеарктические, 3 – общеевропейские, 4 – средиземноморские, 5 – голарктические, 6 – субтропические, 7 – циркумполюзные, 8 – бореальные, 9 – восточносредиземноморские, 10 – космополитические.

Средиземноморские виды составили 13,4%, большую часть которых образуют виды семейства Noctuidae: *Cucullia lychnitis* Rambur, *Cryphia rectilinea* Warren, *Apopestes spectrum* Esper, 1787 и др. Остальные зоогеографические группы представлены небольшим количеством видов.

Ценотическая структура чешуекрылых, характеризуется преобладанием степных ценоморф – 46,8%, которые в основном представлены ксерофильными видами:

Prodotis stolidus Febr., *Oligia latruncula* Denis & Schiff, *Cucullia tanaceti* Denis & Schiff и др. Луговые ценоморфы составили 27,9%, представленные как мезофильными: *Dysgonia algira* Lin., *Tyta luctuosa* Denis & Schiff., *Callistegia mi* Clerck. и др., так и ксерофильными видами: *Minucia lunaris* Denis & Schiff., *Acronicta rumicis* Lin., *Heliothis virescens* Hul. и др. Меньший процент составили лесные ценоморфы - 22,3%, среди которых преобладают мезофильные виды из семейства Noctuidae: *Zanclognatha lunalis* Scopoli, *Conistra veronicae* Hubner, *Catocala nymphagoga* Esper. и др. Опушечные ценоморфы (2,7%) представлены эврибионтными видами из семейства Noctuidae.

В экоморфической структуре, доминирующей группой являются ксерофилы – 56,6%, представленные в большинстве хортобионтами: *Schinia scutosa* Denis & Schiff., *Calophasia opalina* Esper, *Panchrysis aurea* Hubner, *Eublemma ostrina* Hubner и др. Группа мезофилов составили 31,4%, представленная приблизительно в равной степени хортобионтами: *Cryphia muralis* Forster, *Hoplodrina ambigua* Denis & Schiff., *Cryphia algae* Fabr., и др., и дендробионтами: *Catocala nymphagoga* Esper., *Conistra veronicae* Hubner., *Dicucla oo* Linnaeus и др. Наименьшую долю составила группа эврибионтов – 11,8%: *Acronicta euphorbiae* Denis & Schiff., *Macdunnoughia confusa* Steph., *Trichoplusia ni* Hubner. и др.

По преобладанию жизненных форм, в отряде Lepidoptera, доминирующей группой являются хортобионты – 81,1%, в основном это луговые виды: *Macdunnoughia confusa* Steph., *Odice arcuina* Hubner, *Cucullia blattariae* Esper и др., и степные: *Zekelita antiqualis* Hubner, *Prodotis stolidus* Febr., *Trichoplusia ni* Hubner и др. Дендробионты составили небольшой процент – 18,8%, представленные лесными видами: *Catephia alchymista* Denis & Schiff., *Aedia funesta* Esper, *Colocasia coryli* L. и др.

Гименоптера. Мирмекофауна района представлена в основном крымско-кавказскими видами - 38,4%: *Bothriomyrmex communista* Sant., *Temnothorax nikitae* K. Arm., *Temnothorax luteus* F. и *Temnothorax junipereti* K. Arn. и средиземноморскими, на долю которых приходится - 30,7%: *Cardiocondyla elegans* Em., *Temnothorax recedens* Nyl., и *Lasius bicornis* Forst. и др. Степная зоогеографическая группа представлена одним видом: *Leptothorax acervorum* F.

По предпочитаемым биотопам, большее количество видов составляют лесные ценоморфы – 69,2%, среди которых преобладают ксерофилы: *Temnothorax luteus* F., *Lasius bicornis* Forst. и др., и только один вид мезофил - *Leptothorax acervorum* F. Два вида относятся к степным (15,3%), это ксерофильные виды: *Cardiocondyla elegans* Em. и *Temnothorax recedens* Nyl.

Экологическая структура мирмекофауны составляет - 92,3% ксерофильных видов, в большинстве представленная педобионтами: *Lasius bicornis* Forst., *Camponotus piceus* Leach. и др., и мезофильная группа - 7,6%, представленная дендробионтным видом *Temnothorax luteus* F.

Доминирующей группой биоморфической структуры являются педобионты – 53,8%, почти все представленные обитателями леса: *Temnothorax recedens* Nyl., *Lasius alienus* Foerster и др. Стратобионты составили - 30,7% и дендробионты - 15,3%: *Temnothorax luteus* F. и *Leptothorax acervorum* F.

Coleoptera. В комплекс жесткокрылых вошли 254 вида, из которых 76 видов относятся к семейству Cerambycidae и 178 видов – Carabidae.

Хорологический анализ жесткокрылых показал (рис. 3), что на территории юго-западного района преобладают средиземноморские виды – 33,7%. Вторую группу по видовому богатству составили транспалеаркты – 26,4%. Западнопалеарктическая группа составила – 11,7%: *Harpalus rubripes* Duft., *Acupalpus dorsalis* F., *Stenolophus discophorus* Fisch., *Bembidion tenellum* Er., *Amara chaudiroidi* Putz. и др.; и общеевропейская – 9,5%: *Calathus erratus* Schlb., *Stomis pumicatus* Pz., *Olisthopus sturmi* Duft., *Anthracus consputus* Duft. и др.

Понтийская группа составили – 5,6%, представленная видами из рода *Carabus*, *Notiophilus* и *Harpalus*; и степная – 6,1%: *Ophonus puncticollis* Payh., *Poecilus crenuliger* Chaud., *Amara consularis* Duft., *Zabrus tenebrioides* Gz. и др. Наименьшим количеством представлена голарктическая группа – 3,3%: *Tachyta nana* Dill., *Bembidion quadrimaculatum* L., *Dyschirius aeneus* Dej., *Elaphrus riparius* L. и др.; среднеазиатская группа – 2,2%: *Harpalus steveni* Dej., *Amara testicola* Zimm., *Pogonistes angustus* Gebl., и крымско-кавказская группа представленная одним видом - *Leistus caucasicus* Chd.

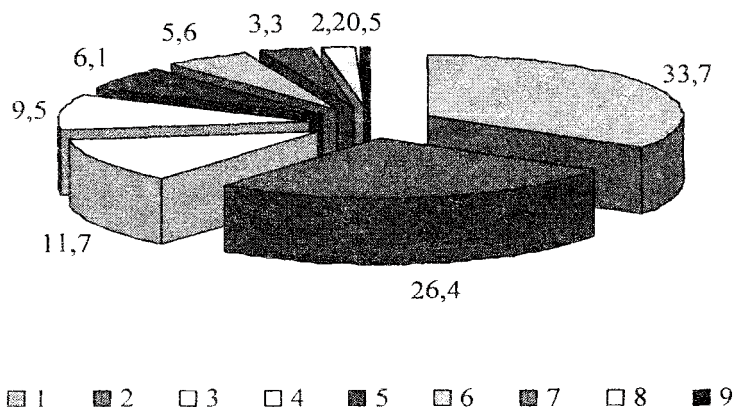


Рис. 3. Соотношение зоогеографических групп отряда Coleoptera для юго-западного района ЮБК (%): 1 – средиземноморские виды, 2 – транспалеарктические, 3 – западнопалеарктические, 4 – общеевропейские, 5 – степные, 6 – понтийские, 7 – голарктические, 8 – среднеазиатские, 9 – крымско-кавказские.

Для ценотической структуры (рис. 4) характерно преобладание лесных ценоморф – 35,4%, представленных ксерофильными видами: *Ergates faber* L., *Arhopalus tristis* F., *Phymatodes glabratus* Charp. и др., и мезофильными: *Cerambyx dux* Fald., *Penichroa fasciata* Steph., *Rhopalopus clavipes* F., *Hesperophanes sericeus* F. и др.

Меньше видов приходится на степные ценоморфы – 24,8%, представленные ксерофилами: *Amara testicola* Zimm., *Ophonus puncticollis* Payh., *Calamobius filum*

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭНТОМОКОМПЛЕКСОВ

Rossi. и др. Остальные группы ценоморф составляют приблизительно одинаковые доли: луговые – 11,0%, пресная литораль – 13,3% и соленая литораль – 11,4%. Наименьшую долю видов составила солоно-пресная литораль – 1,9%, которую образуют гигрофильные виды: *Bembidion varium* Ol., *B. minimum* F., *B. latiplaga* Chd., *B. tenellum* Er. и один галофильный вид: *Dyschirius aeneus* Dej., 1825.

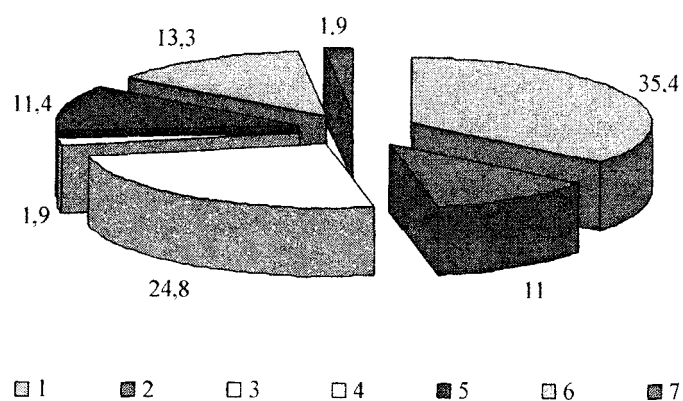


Рис. 4. Соотношение групп ценоморф отряда Coleoptera для юго-западного района ЮБК (%): 1 – лесные ценоморфы, 2 – луговые, 3 – степные, 4 – опушечные, 5 – обитатели соленой литорали, 6 – пресной литорали, 7 – солоно-пресной литорали.

Экологическая структура характеризуется преобладанием ксерофильных видов, на долю которой приходится – 37,0%, из них большую часть видов составляют Cerambycidae, представленные в основном лесными видами: *Macrotoma scutellaris* Germ., *Rhagium inquisitor* L., *Cortodera villosa* Heyd., *Strangalia nigra* L. и др., и Carabidae, среди которых преобладают степные виды: *Zabrus tenebrioides* Gz., *Taphoxenus gigas* Fisch., *Amara fusca* Dej., *Ophonus convexicollis* Men. и др.

Мезофильная группа составила – 27,1%, из них большую часть видов составили Cerambycidae, представленные лесными видами: *Prionus coriarius* L., *Actaeops collars* L., *Cerambyx miles* Bon., *Rosalia Alpina alpina* L. и др., меньшее количество видов отмечено для семейства Carabidae, среди которых преобладают лесные виды: *Calosoma sycophanta* L., *Carabus scabrosus tauricus* Bon., *Notiophilus pusillus* Waterh., *Tachyta nana* Dill., *Lacmostenus cimmerius* Fisch., 1823 и др., и луговые виды: *Cicindela germanica* L., *Amara similata* Gyll., *Poecilus sericeus* Fisch., *Agonum viridicupreum* Goere. и др. Остальные группы гигроморф представлены меньшими долями: гигрофилы – 16,5%, галофилы – 11,4% и эврибионты – 7,8%, представленные видами из семейства Carabidae.

Ядро биотической структуры жесткокрылых составили стратобионты – 36,6%, представленные видами из семейства Carabidae. Среди которых преобладают хищные формы насекомых: *Cicindela hybrida* L., *Carabus bessarabicus* Fisch., *Nebria brevicollis* F. и др.

Также отмечены и фитофаги, но в меньшей степени: *Dicheirotrichus pubescens* Pk., *Ophonus rupicola* Sturm., *Pseudoophonus griseus* Pz. и др. Вторую группу по обилию видов составили педобионты – 27,1%, среди которых доминируют зоофаги: *Pogonus luridipennis* Germ., *Poecilus sericeus* Fisch., *Clivina fossor* L. и др., и некоторые фитофаги: *Harpalus latus* Duft., *Parophonus suturalis* Chaud., *Carterus dama* Rossi. и др. Дендробионты составили – 24,8%, представленные видами семейства Cerambycidae: *Prionus coriarius* L., *Stenocorus insitivus* Germ., *Actmaeops collars* L., *Cortodera villosa* Heyd., *Pseudovadonia livida pecta* Dan. и др. Наименьшую группу образуют хортобионты – 11,4%, представленные фитофагами среди усачей и жуужелиц: *Isotomus comptus* Mannh., *Phytoecia praetextata* Stev., *Amara chaudiroidi* Putz. и др.

ВЫВОДЫ

1. Пространственную структуру энтомокомплекса юго-западного района Южного берега Крыма образуют виды насекомых транспалеарктического (27,5%) и средиземноморского (25,1%) происхождения.
2. В ценотической структуре преобладают степные (32,1%) и лесные (31,9%) ценоморфы.
3. Экоморфическая структура характеризуется высокими показателями таких групп как ксерофилы – 45,6% и мезофилы – 28,1%.
4. В биоморфической структуре преобладающей группой являются хортобионты – 35,3%.
5. Среди абиотических факторов влияющих на формирование энтомокомплексов Южного берега Крыма в пространстве, важную роль играет высота над уровнем моря. Выявлена тесная корреляция между этим фактором и численностью видов, $r = -0,83$.

Список литературы

1. Пышкин В.Б., Кобечинская В.Г. Анализ фауны жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae) // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана (Тематич. сб. науч. тр.). – Симферополь: Таврия, 2002. – № 12. – С. 103–108.
2. Ена В.Г. Заповедные ландшафты Крыма. – Симферополь: Таврия, 1983. – 123 с.
3. Багрова Л.А., Боков В.А., Багров Н.В. География Крыма. – Киев: Лыбидь, 2001. – 300 с.
4. Бабков И.И. Климат Крыма. – Л.: Гидрометеоздат, 1961. – 88 с.
5. Вознесенский А.В. Климат Крыма. – Симферополь: Крымгосиздат, 1923. – 22 с.
6. Подгородецкий П.Д. Крым природа. – Симферополь: Таврия, 1988. – 192 с.
7. Длусский Г. М. Методы количественного учета почвообитающих муравьев // Зоол. журнал. – 1965. – Т. 44, № 5. – С. 716–726.
8. Гиляров М. С. Зоологический метод диагностики почв. – М.: Наука, 1965. – 276 с.
9. Гиляров М. С. Методы количественного учета почвенной фауны // Почвоведение. – 1941. – № 4. – С. 48–77.
10. Moris H. On a method of separating insects and other Arthropods from soil // Bull. Entomol. Res. – 1922. – Vol. 13. – P. 197–200.
11. Roberts R. J., Pidsill Smith I. J. A plough technique for sampling soil insects // J. Appl. Ecol. – 1972. – Vol. 9. – P. 472–430.
12. Бельгард А.Л. Лесная растительность юго-востока Украины. – Киев: Изд-во Киев. ун-та, 1950. – 263 с.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭНТОМОКОМПЛЕКСОВ

13. Апостолов Л.Г. Вредная энтомофауна лесных биогеоценозов центрального Приднепровья: Монография. – Киев, 1981. – 232 с.
14. Грюнталь С.Ю. Комплексы жужелиц (Coleoptera, Carabidae) в лесах подзоны широколиственно-еловых лесов // Фауна и экология почвенных беспозвоночных Московской области. – М., 1983. – С. 85–98.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Изд-во «Высшая школа», 1980. – 289 с.
16. Рыбка Т.С., Пышкин В.Б. Биоразнообразие и функциональная роль карабидофауны (Coleoptera: Carabidae) в наземных экосистемах юго-западного побережья Крыма // Биоразнообразие и роль зооценозов в естественных и антропогенных экосистемах: Материалы III Международной научной конференции. – Днепропетровск, 2005. – Т.13. – 552 с.
17. Рыбка Т.С., Пышкин В.Б. К биоразнообразию карабидофауны (Insecta, Carabidae) юго-западного района ЮБК // II Международная научно-практическая конференция. Тезисы докладов. – Днепропетровск, 2006. – С.34.
18. Андрианова Н.С. Экология насекомых. – Изд-во Московского ун-ва, 1970. – 156 с.

Рыбка Т.С. Особливості формування ентомокомплексів гірсько-лісових екосистем південно-західного району Південного берега Криму // // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 74-81.

Викладені результати досліджень ентомокомплексів гірсько-лісових екосистем південно-західного району Південного берега Криму, з аналізом просторової, ценотичної, екоморфичної і біоморфичної структур.

Ключові слова: ентомокомплекс, Південний берег Криму, ценоморфи, екоморфи, біоморфи.

Rybka T.S. The peculiarities of entomological complex formation in south-west region mountain-forest ecosystems of Southern coast of Crimea // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 74-81.

Results of investigations of mountain-forest ecosystems entomocomplexes of south-western region of Southern coast of Crimea with analysis of their spatial, cenotic, ecomorphic and biomorphic structures are given.

Keywords: entomocomplex, Southern coast of Crimea, cenomorphs, ecomorphs, biomorphs.

Поступила в редакцію 01.10.2007 г.

УДК 612.015.2+612.014.447:616.839

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА НА ДЕЙСТВИЕ ГЕЛИОГЕОФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ОТ ВЕГЕТАТИВНОГО СТАТУСА

Темурьянц Н.А., Н.П. Верко, П.Е. Григорьев

Достоверные корреляционные связи между индексами солнечной активности и всеми показателями психоэмоционального состояния обнаружены только в группе ваготоников. Сдвиг лейкоцитарной формулы влево преобладал в условиях «спокойного» солнца и сниженной солнечной и геомагнитной активности; увеличение зрелых форм нейтрофилов – в дни повышенной солнечной и геомагнитной активности. Повышенная солнечная и геомагнитная активность способствовали развитию у ваготоников и лиц с вегетативным равновесием реакции стресса. В периоды беспокойной гелиогеомагнитной обстановки угнетена активность бактерицидной системы миелопероксидазы в нейтрофилах крови симпатотоников и, особенно, ваготоников.

Ключевые слова: гелиогеофизические факторы, реакции организма человека, вегетативный статус.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время накоплено много фактов, достоверно свидетельствующих о влиянии гелиогеофизических факторов на биологические процессы [1,2]. Изменения функционального состояния различных физиологических систем здоровых и, особенно, больных лиц при геофизических возмущениях зачастую носят неодинаковый характер [2,3]. Неодинаковый характер реакций организма человека может быть связан с индивидуальной чувствительностью. Природа индивидуальной чувствительности изучена совершенно недостаточно.

Индивидуальную чувствительность организма может определять состояние вегетативной нервной системы, от которой значительно зависит степень реакции индивидуумов на действие разнообразных факторов. Однако этот вопрос не изучен. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование зависимости реакций организма человека на действие гелиогеофизических факторов от вегетативного статуса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 60 студентов (возраст - 18-20 лет; пол – юноши и девушки) лечебного, педиатрического и фармацевтического факультетов КГМУ им. С.И.Георгиевского. Вегетативный статус оценивали по индексам Кердо и Хильдебрандта [4]. На основании значений этих индексов все обследуемые были

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

распределены на группы ваготоников, симпатотоников и лиц с вегетативным равновесием (эйтоники). Среди обследуемых большинство составили ваготоники (30 человека), меньшинство – эйтоники (10 человек).

Для решения поставленных задач проведено две серии экспериментов. В первой серии (проводилась в весеннее время года) изучали корреляции показателей психоэмоционального состояния (тревожность, работоспособность, активность, настроение и самочувствие) у лиц с различным вегетативным статусом с вариациями солнечной активности. Психоэмоциональное состояние обследуемых оценивали по модифицированной методике самооценки «САН» [5]. Тестирование проводилось ежедневно, в одно и то же время дня в течение 33 суток.

Во второй серии (проводилась в осеннее время года) исследовали морфологический состав лейкоцитов, динамику адаптационных реакций, содержания миелопероксидазы в нейтрофилах периферической крови и индекса регенерации нейтрофилов у ваготоников, симпатотоников и лиц с вегетативным равновесием.

Тип адаптационной реакции определяли по сигнальному показателю – отношению лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам (л/сн) [6]. Морфологический состав лейкоцитов определяли в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза. Цитохимическое содержание миелопероксидазы в нейтрофилах крови определяли с помощью реакции Грэхема [7]. Количественную оценку содержания миелопероксидазы в нейтрофилах крови производили в соответствии с принципом Karlow [8]. Индекс регенерации нейтрофилов рассчитывали как отношение суммы процентного содержания всех несегментированных форм нейтрофилов к сегментированным. Забор периферической крови осуществляли через день (в утренние часы) в течение месяца. В зависимости от солнечной и геомагнитной активности дни этого месяца были разделены на дни спокойного солнца (СС) (числа Вольфа = 13 усл.ед.), дни высокой солнечной активности (ВСА) (числа Вольфа = 60 усл.ед.), дни высокой геомагнитной активности (ВГА) (Ар-индекс геомагнитного возмущения = 55 нТл), дни низкой солнечной и геомагнитной активности (НСГА) (числа Вольфа = 1 усл.ед., Ар-индекс = 15 нТл). Значения чисел Вольфа и Ар-индекса взяты из Всемирного банка данных.

Результаты исследования подвергались статистической обработке с использованием корреляционного анализа. Оценка достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования позволил установить наличие достаточно высокой корреляционной связи ($r=+0,76$) между показателями психоэмоционального состояния и числами Вольфа у лиц с различным вегетативным статусом (рис.1). Выявлены достоверные корреляционные связи между всеми психоэмоциональными показателями и числами Вольфа в группе ваготоников (рис. 2 – 6). В группе симпатотоников достоверная корреляционная связь с вариациями солнечной активности отмечена только со стороны показателей

настроения и тревожности. У эйтоников отсутствовали достоверные корреляционные связи между параметрами психоэмоционального состояния и вариациями солнечной активности. При анализе психоэмоционального состояния лиц с различным вегетативным статусом отмечена достоверная отрицательная корреляция между колебаниями геомагнитной активности и показателем настроения только у симпатотоников ($r = -0,48^*$).

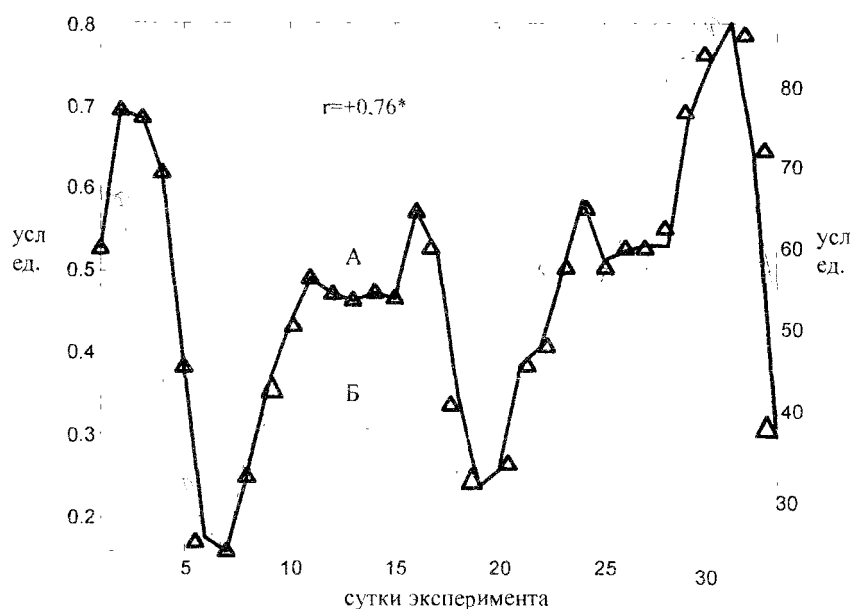


Рис. 1. Сопоставление динамики интегрального показателя САН (А) и чисел Вольфа (Б).

У лиц с различным вегетативным статусом обнаружены отличия в морфологическом составе лейкоцитов в дни с различной активностью гелиогеофизических факторов. В день высокой солнечной активности практически идентичные лейкограммы зарегистрированы у ваготоников и лиц с вегетативным равновесием (рис.7,9). У обследуемых этих групп количество лимфоцитов соответствовало зоне нижней границе нормы (22% и 20% соответственно), а количество сегментоядерных нейтрофилов – зоне верхней границе нормы (62% и 74% соответственно). Отличительным признаком лейкограмм ваготоников и эйтоников стало число моноцитов, которое составило 9% у ваготоников и 2% - у эйтоников. В группе симпатотоников (рис.8) количественные соотношения лейкоцитов (особенно лимфоцитов и сегментоядерных лейкоцитов) в день высокой солнечной активности отличались от таковых у ваготоников и лиц с вегетативным равновесием. Так, процентное содержание лимфоцитов в лейкограмме симпатотоников было в 2 раза

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

выше, чем у ваготоников и эйтоников, а количество сегментоядерных нейтрофилов составило 46% против 62% и 74% у ваготоников и эйтоников соответственно. Соотношение других видов лейкоцитов в лейкограмме симпатотоников незначительно отличалось от такового у обследуемых других групп.

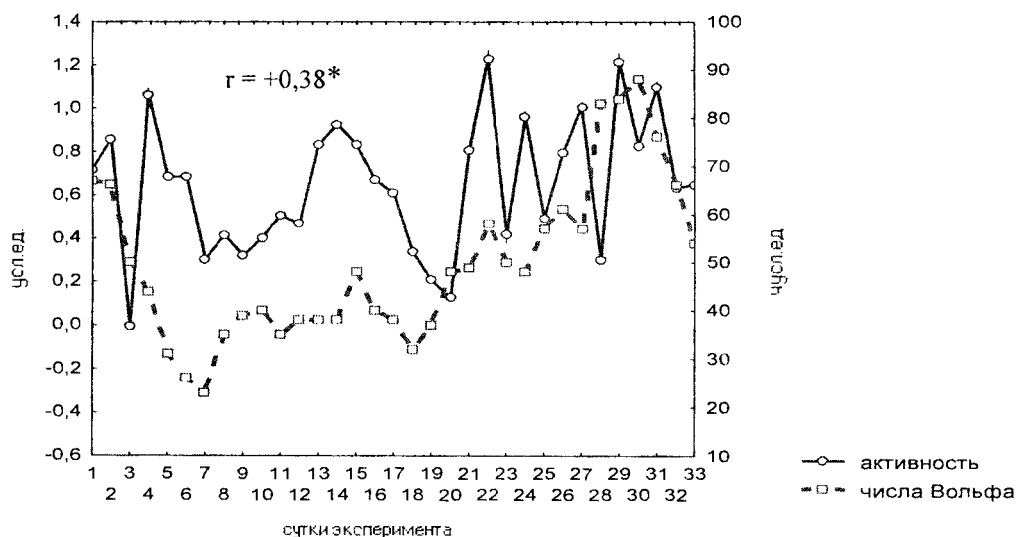


Рис. 2. Динамика чисел Вольфа и показателя активности у ваготоников.

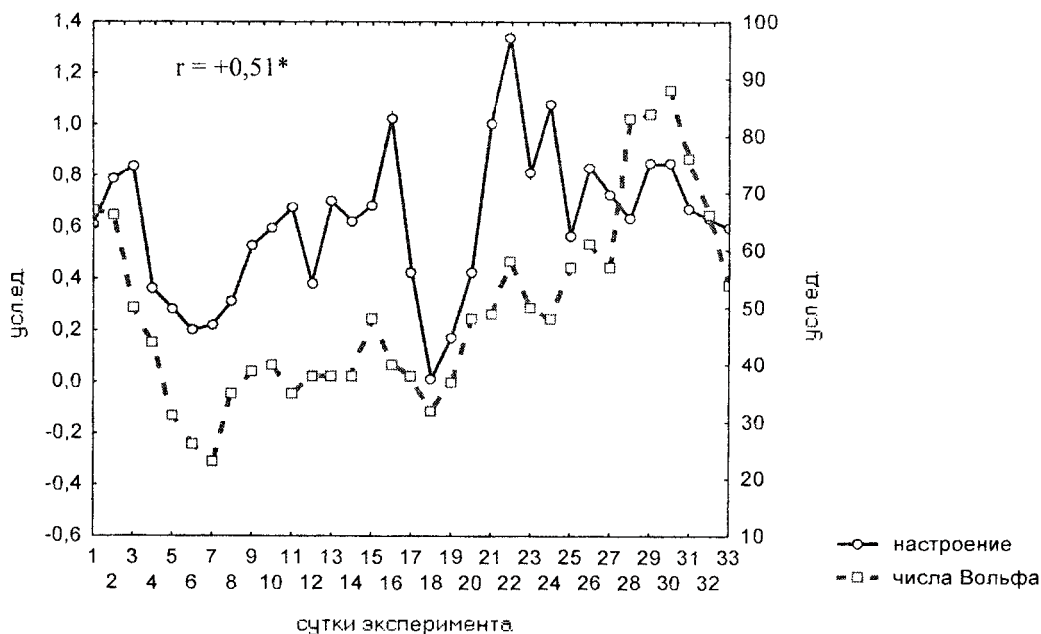


Рис. 3. Динамика чисел Вольфа и показателя настроения у ваготоников.

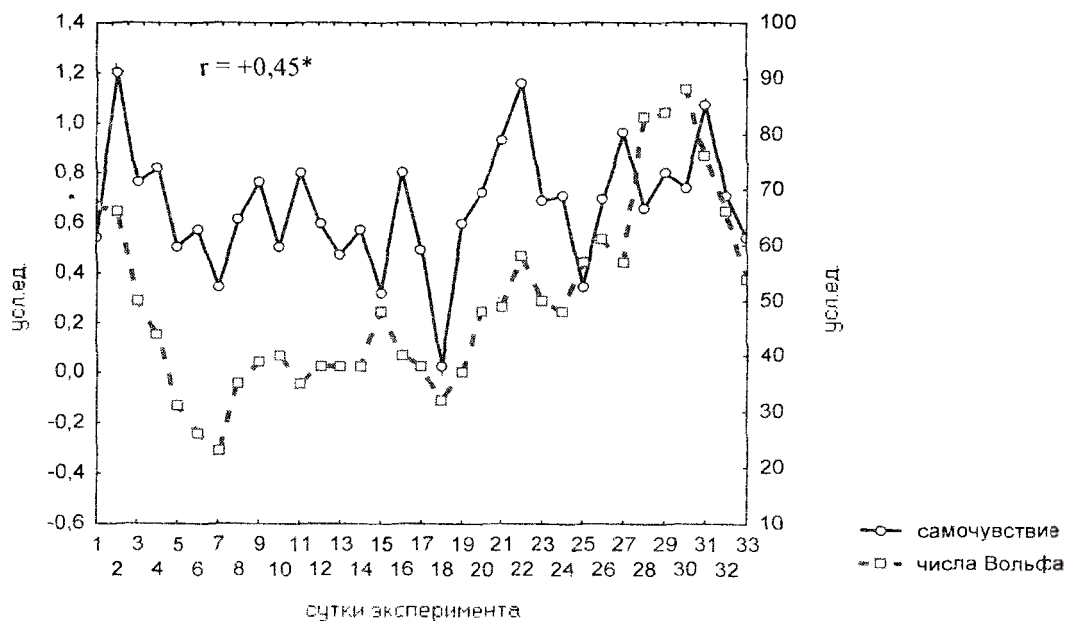


Рис. 4. Динамика чисел Вольфа и показателя самочувствия у ваготоников.

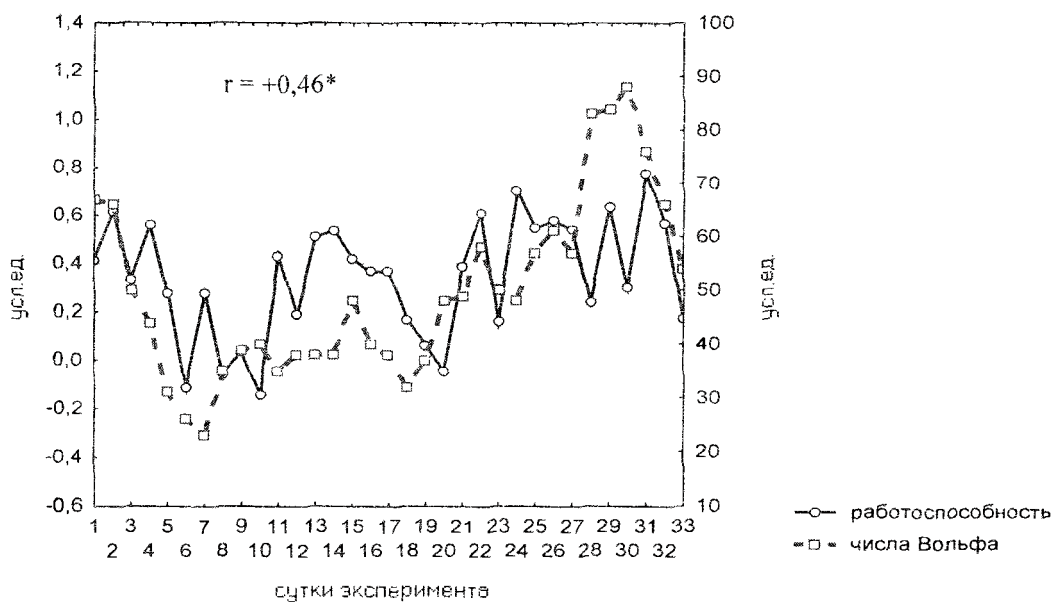


Рис. 5. Динамика чисел Вольфа и показателя работоспособности у ваготоников.

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

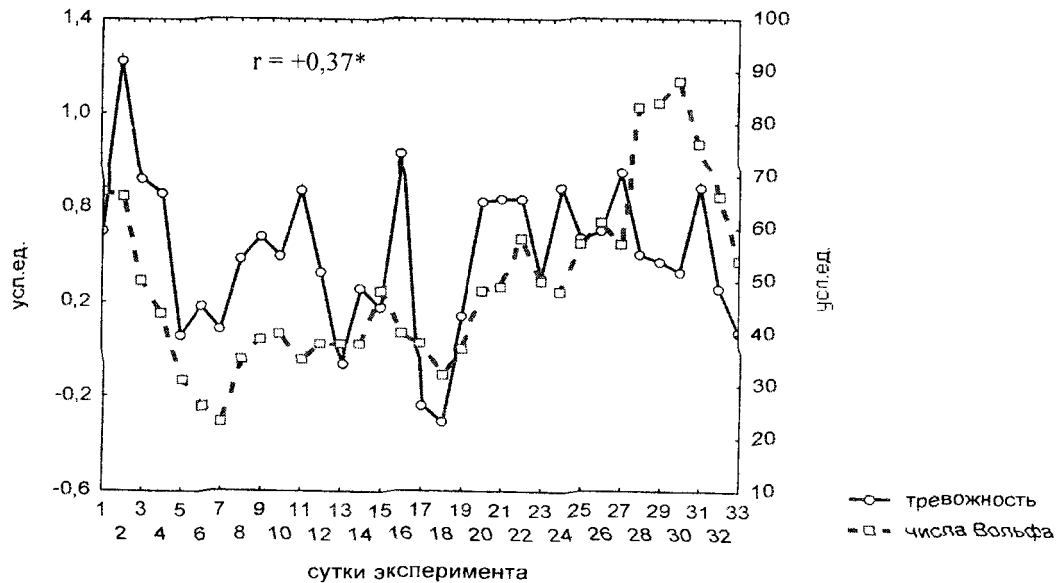


Рис. 6. Динамика чисел Вольфа и показателя тревожности у ваготоников.

В день высокой геомагнитной активности морфологический состав лейкоцитов у лиц с различным вегетативным статусом имел следующие особенности (рис. 7,8,9). В этот период зарегистрировано самое высокое (по сравнению с днями ВСА и НСГА) процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов в лейкограммах ваготоников (72%), симпатотоников (53%) и самое низкое содержание лимфоцитов в лейкограмме ваготоников. У эйтоников в этот период количество юных и палочкоядерных форм нейтрофилов было максимальным (6%) по сравнению со значениями данного показателя в дни с иной гелиогеомагнитной активностью.

В день низкой солнечной и геомагнитной активности лейкограммы обследуемых с различным вегетативным статусом отличались от соответствующих в другие дни исследования высокими значениями количества лимфоцитов у ваготоников (38%) и эйтоников (31%), юных и палочкоядерных форм нейтрофилов у ваготоников (9%) и симпатотоников (4%), а также низким процентным содержанием сегментоядерных нейтрофилов в группе эйтоников (59%) и симпатотоников (41%).

В день спокойного солнца лейкограммы ваготоников, симпатотоников и лиц с вегетативным равновесием имели много общего с таковыми в день низкой солнечной и геомагнитной активности (рис. 7,8,9)

Результаты исследования динамики индекса регенерации нейтрофилов показали (табл.1), что в дни с различной солнечной и геомагнитной активностью наименьшие сдвиги в значениях данного показателя отмечены в группе симпатотоников, тогда как наибольшие – зарегистрированы у ваготоников. Важно отметить, что сдвиг лейкоцитарной формулы влево отмечен в дни спокойного солнца (у ваготоников и симпатотоников) и сниженной солнечной и геомагнитной активности (у

ваготоников). Этот факт указывает на стимуляцию лейкопоза и регенерацию нейтрофилов в эти дни у обследуемых указанных групп. Сдвиг лейкоцитарной формулы вправо у представителей всех исследуемых групп особенно заметен в дни повышенной солнечной и геомагнитной активности, что свидетельствует о повышении функциональных возможностей нейтрофилов.

Таблица 1.
Индекс регенерации нейтрофилов в дни с различной гелиогеофизической активностью ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Дни с различной гелиогеофизической активностью	Группы лиц с различным вегетативным статусом		
	Симпатотоники 1	Ваготоники 2	Эйтоники 3
НСГА	0,06±0,004	0,12±0,001 $p_{2,1} < 0,01$	0,06±0,002 $p_{3,2} < 0,05$
ВСА	0,04±0,003	0,05±0,002 $p_{2,1} < 0,05$	0,02±0,001 $p_{3,1} < 0,05$
СС	0,12±0,004	0,11±0,004	0,03±0,0001 $p_{3,1} < 0,001$ $p_{3,2} < 0,001$
ВГА	0,05±0,002	0,02±0,001	0,05±0,001

Примечание: $p_{1,3}$ - достоверность различий между группами, обозначенных в таблице 1-3 соответственно.

Анализ динамики неспецифических адаптационных реакций (рис. 10) у лиц с различным вегетативным статусом показал, что в условиях повышенной солнечной и геомагнитной активности адаптационная реакция стресса развивалась у ваготоников и эйтоников. В условиях сниженной солнечной и геомагнитной активности, а также в условиях спокойного солнца, ваготоники пребывали в состоянии адаптационной реакции повышенной активации. В эти же дни сигнальный показатель развивающихся адаптационных реакций у лиц с вегетативным равновесием находился в зонах антистрессорных реакций тренировки и спокойной активации. У симпатотоников в дни с различной гелиогеофизической активностью развивалась адаптационная реакция повышенной активации.

Анализ результатов содержания миелопероксидазы в нейтрофилах крови лиц с различным вегетативным статусом позволил выделить следующие моменты. Низкая солнечная и геомагнитная активность не вызывали существенных отклонений в содержании этого показателя от значений физиологической нормы. У лиц с вегетативным равновесием содержание миелопероксидазы в нейтрофилах крови вообще находилось в зоне физиологической нормы. В дни высокой геомагнитной и солнечной активности цитохимическое содержание миелопероксидазы снижалось относительно нормы в нейтрофилах крови симпатотоников и, особенно, ваготоников. В дни с беспокойной гелиогеомагнитной

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

обстановкой ЦПС миелопероксидазы в нейтрофилах крови эйтоников находился вблизи зоны физиологической нормы этого параметра (недостоверно отличался от нее). Обнаруженный факт дополняет вышеизложенные сведения о низкой чувствительности лиц с вегетативным равновесием к гелиогеофизическим факторам.

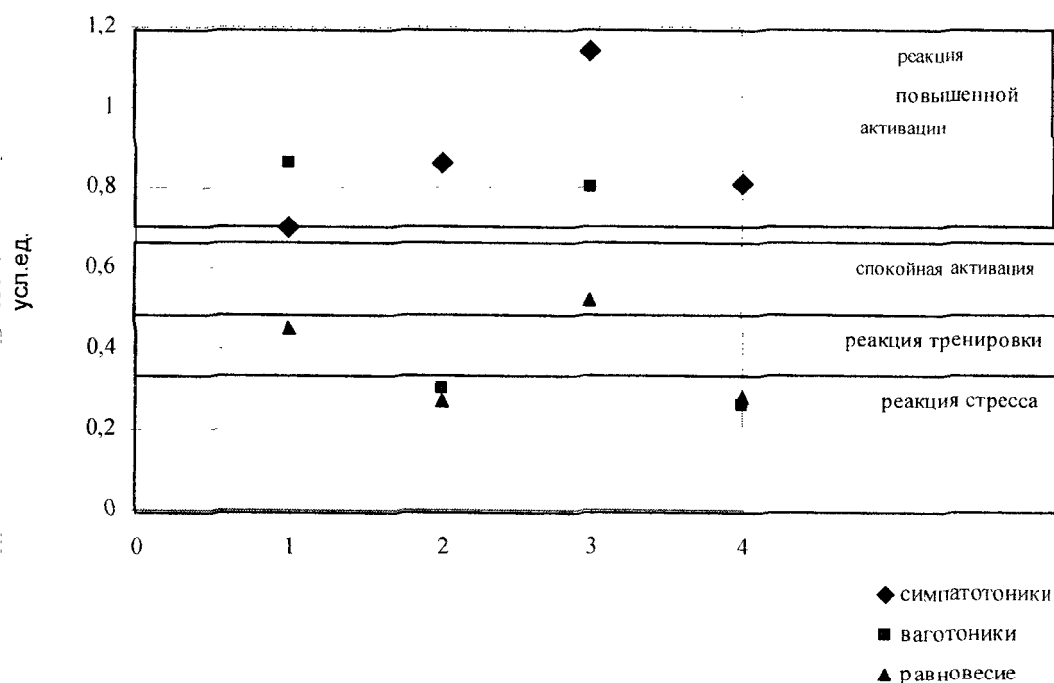


Рис. 10. Динамика адапционных реакций в условиях различной гелиогеофизической активности (1 – СС; 2 – ВСА; 3 – НСГА; 4 – ВГА)

ВЫВОДЫ

1. Реакции организма человека на действие гелиогеофизических факторов зависят от его вегетативного статуса.
2. Наиболее чувствительны к гелиогеофизическим факторам ваготоники.
3. Более выраженные изменения в организме лиц с различным вегетативным статусом развиваются при повышенной СА и ГА, нежели при низкой солнечной и геомагнитной активности.

Список литературы

1. Агаджанян Н.А., Ораевский В.Н., Макарова И.И., Канониди Х.Д. Медико-биологические эффекты геомагнитных возмущений. - М.: ИЗМИРАН, 2001. – 135с.
2. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А. Влияние солнечной активности на биосферу-ноосферу. – М.: Изд-во МНЭПУ, 2000. – 374с.

3. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С. Космическая погода и наша жизнь. – Фрязино: «Век 2», 2004. – 224с.
4. Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение. / Под ред. А.М. Вейна. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2003. – 752с.
5. Бачериков Н.Е., Воронцов М.П., Добромилль Э.И. Психогигиена умственного труда учащейся молодежи. – Киев: Здоровье, 1988. – 165с.
6. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Адаптационные реакции и активационная терапия. – М.: Имедис, 1998. – 655с.
7. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645с.
8. Kaplow L.S. A histochemical procedure for localizing and evaluation leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow // Blood. – 1995. - № 10. – С.1023-1029.

Темур'янц Н.А., Верко Н.П., Григорьев П.Е. Залежність реакцій організму людини на дію геліогеофізичних чинників від вегетативного статусу // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 82-90.

Вірогідні кореляційні зв'язки між індексами сонячної активності і всіма показниками психоемоційного стану виявлені тільки в групі ваготоніків. Зсув лейкоцитарної формули вліво переважав в умовах “спокійного” сонця і зниженої сонячної і геомагнітної активності; збільшення зрілих форм нейтрофілів – в дні підвищеної сонячної і геомагнітної активності. Підвищена сонячна і геомагнітна активність сприяють розвитку у ваготоніків та осіб з вегетативною рівновагою реакції стресу. В періоди неспокійної геліогеомагнітної обстановки пригнічена активність бактерицидної системи мієлопероксидази в нейтрофілах крові симпатотоніків і, особливо, ваготоніків.

Ключові слова: геліогеофізичні чинники, реакції організму людини, вегетативний статус.

Temur'ynz N.A., Verko N.P., Grigor'ev P.E. Dependence of human body reactions to heliogeophysical factors action on vegetative status // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 82-90.

As a result of research the authentic correlation between indexes of solar activity and all parameters of psychoemotional condition in group of vagotonics has been found out. A shift of leukocytic formula to the left prevailed in the conditions of the "quiet" sun and the decreased solar and geomagnetic activity; the increase in mature forms of neutrophils – in the days of the raised solar and geomagnetic activity. The increased solar and geomagnetic activity contributes to the development of stress reaction in vagotonics and persons with vegetative balance. In the periods of heavy heliogeomagnetic condition the activity of bactericidal system of myeloperoxidase in neutrophils of blood of sympathicotonics and especially vagotonics is suppressed.

Keywords: heliogeophysical factors, human body reactions, a vegetative status.

Поступила в редакцію 12.07.2007 г.

УДК 591.18: 615.849.11

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОПІОЇДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ В МЕХАНІЗМАХ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОЇ ДІЇ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НАДТО ВИСОКОЇ ЧАСТОТИ

Чуян О.М., Джелдубасва Е.Р.

Досліджена роль опіоїдєргічної системи в механізмі антиноцицептивної дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти (ЕМВ НВЧ) при тонічному, вісцеральному і гострому термічному болю у щурів. Отримані результати свідчать на користь певної універсальності анальгетичної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ на організм і доводить участь опіоїдєргічної системи у механізмі антиноцицептивної і антистресової дії даного фізичного чинника. Дані цього дослідження дозволяють розширити уявлення про механізми біологічної дії ЕМВ НВЧ і можуть бути використані для підвищення ефективності НВЧ-терапії.

Ключові слова: низькоінтенсивне електромагнітне випромінювання надвисокої частоти, антиноцицептивна дія, налоксон.

ВСТУП

Вивчення механізмів розвитку болю і знеболення завжди були і залишаються в центрі проблем медико-біологічних наук. Дослідження останніх років продемонстрували поважну роль системи опіоїдних пептидів (ОпП) в розвитку стрес-реакції організму, в регуляції рівня больової чутливості і модуляції емоційного, поведінкового, вегетативного і інших компонентів цих реакцій [1, 2]. Дані по вивченню розподілу опіоїдних рецепторів (ОпР), їх лігандів в мозку, біохімічних і фармакологічних властивостей ОпП, а також експериментів, проведених із застосуванням одного з найбільш відомого і широко вживаного антагоніста ОпР, – налоксону з'явилися основою для припущення, що різні види знеболення забезпечуються, головним чином, опіоїдєргічною системою [3, 4]. Разом з тим, експериментальні дослідження з використанням налоксону мають суперечливі дані про його здатність пригноблювати ефекти різних видів знеболення. Так, у щурів часткове збільшення больової чутливості у присутності налоксону встановлене при неунікаємому больовому стресі, плаванні в холодній воді, умовному больовому стресі [5, 6]. Проте у ряді інших досліджень впливу налоксону на рівень больової чутливості не наголошується [7]. Відмінність кінцевих ефектів при дії налоксону, очевидно, обумовлено різноманітністю нейрохімічного і нейроморфологічного забезпечення механізмів регуляції больової чутливості і пов'язано з різним ступенем активації опіоїдних механізмів знеболення, яке, у свою чергу, визначається умовами проведення експерименту.

У наших попередніх дослідженнях показано, що попередня дія низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання (ЕМВ) надто високої частоти (НВЧ) надає виражену антиноцицептивну дію при експериментально викликаних тонічною, вісцеральною, гострою термічною больових реакціях, що свідчить на користь певної універсальності анальгетичної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ на організм [8]. Крім того, показана участь системи ендогенних ОпП в реалізації механізмів біологічної дії ЕМВ НВЧ [9]. Участь же опіоїдергічної системи в механізмах антиноцицептивного ефекту ЕМВ НВЧ при дії різних больових факторів не вивчена.

У зв'язку з вищевикладеним метою даної роботи з'явилася дослідження ролі опіоїдергічної системи в механізмі антиноцицептивної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ (7,1 мм; 0,1 мВт/см²) при больовому стресі у щурів.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження виконані на дорослих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 грамів (n = 108), отриманих з розплідника науково-дослідного інституту біології Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Для експериментів відбирали тварин з середнім рівнем рухової активності і низькою емоційністю, визначуваних в тесті «відкритого поля», які, згідно нашим [10] і літературним даним [11], переважають у популяції. Тому можна стверджувати, що саме у цих тварин розвивається найбільш типова реакція на будь-яку дію.

Було проведено три серії експериментів. У першій серії моделювали тонічний біль в "формаліновому тесті" (ФТ). Осередок тонічного болю спричиняли шляхом підшкірної ін'єкції 5%-ного розчину формаліну (0,08 мл на 100 грам ваги) у дорсальну поверхню стопи задньої кінцівки щурів [12]. Тварини другої (Н+ФТ) та четвертої (Н+НВЧ+ФТ) груп за 15 хвилин до експериментальних дій (больовий стрес, дії ЕМВ НВЧ) внутрішньоочеревинно вводили блокатор всіх субтипів ОпР – налоксон («Sigma», США) розчинений у фізіологічному розчині налоксон з розрахунку 10 міліграм на 1 кг ваги тварини. Дана доза препарату є достатньою для блокування практично всіх типів опіоїдних рецепторів [13, 14]. Щурам першої (ФТ) і третьої (НВЧ+ФТ) груп вводився у черевну порожнину еквівалентний об'єм фізіологічного розчину (0,9 % розчин NaCl). Тварини третьої (НВЧ+ФТ) і четвертої (Н+НВЧ+ФТ) груп безпосередньо перед больовим стресом додатково піддавалися превентивній дії ЕМВ НВЧ.

У другій серії експериментів моделювали вісцеральну біль в "оцтовому тесті" (ОТ) за допомогою внутрішньоочеревинною ін'єкцією 2% оцтовою кислотою (1 мл на 100 грам ваги). Тваринам другої (Н+ОТ) і четвертої (Н+НВЧ+ОТ) груп за 15 хвилин до експериментальних дій вводили розчин налоксону (10 міліграм/кг), а щурам першої (ОТ) і третьої (НВЧ+ОТ) груп – еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Тварини третьої (НВЧ+ОТ) та четвертої (Н+НВЧ+ОТ) груп піддавалися попередній 30-ти хвилинній НВЧ-дії.

Після ін'єкції кожного щура повертали у свою клітку і за допомогою спеціальної комп'ютерної програми [15] реєстрували на протязі 90 або 60 хвилин тривалість поведінкових (больових і небольових) проявів. Показниками

інтенсивності больової реакції у щурів при експериментально викликаному тонічному болю служила тривалість лизання кінцівки, в яку була зроблена ін'єкція, а вісцеральному болю – тривалість тонічних поз (корячення) та реакції вилизування живота. Небольові поведінкові прояви оцінювалися за тривалістю рухової активності і пасивної поведінки. При цьому рухова активність визначалася по сумі часу переміщення тварин по клітині і часу, витраченого тваринами на приймання їжі і грумінгу. Тривалість пасивної поведінки представляла суму часу, витраченого тваринами на сон і спокій.

У третій серії експериментів моделювали гострий термічний біль в тесті "гарячої пластини" (ТГП), що включає емоційну реакцію на біль. У цьому тесті визначали больовий поріг (БП), за який приймали мінімальну температуру, що супроводжується появою перших больових реакцій (відмикування і лизання кінцівок). При поступовому збільшенні температури контактного елемента ($0,1^{\circ}\text{C} / 2\text{c}$) визначали рівень витривалості болю (РВБ), при якому спостерігався розвиток іншого рівня ноцицептивного збудження, що супроводжувалося максимальним посиленням емоційно-поведінкових проявів: генералізованна рухова реакція втечі, стрибка і вокаліз, що свідчить про відсутність толерантності до ноцицептивного подразника і про виникнення мотивації усунення больових відчуттів [12]. У цьому тесті тварині надавали по три спроби – через три хвилини один за одним, потім вираховували середнє арифметичне з трьох вимірювань. Тварини другої (Н+ТГП) і четвертої (Н+НВЧ+ТГП) груп за 15 хвилин до експериментальної дії піддавалися внутрішньоочеревинній ін'єкції налоксону (10 міліграм/кг), а щури першої (ТГП) і третьої (НВЧ+ТГП) груп – ін'єкції еквівалентного об'єму фізіологічного розчину. Безпосередньо перед термічною дією тварини другої (НВЧ+ТГП) і четвертої (Н+НВЧ+ТГП) груп піддавалися опромінюванню низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ.

Дія ЕМВ НВЧ в трьох серіях експериментальних досліджень здійснювалася за допомогою терапевтичного генератора «КВЧ. РАМЕД-ЕКСПЕРТ – 01» з довжиною хвилі 7,1 мм (частота випромінювання – 42,3 ГГц) і щільністю потоку потужності 0,1 мВт/см², виготовленого Центром радіофізичних методів діагностики і терапії «РАМЕД» Інституту технічної механіки НАНУ, м. Дніпропетровськ (реєстраційне свідоцтво № 783/99 від 14.07.99, видане КНМТ МОЗ України про право на застосування в медичній практиці в Україні). Дія здійснювалася по 30 хвилин на потилично-комірну область [16]. Тварин першої і другої груп піддавали уявній дії ЕМВ НВЧ («плацебо») тієї ж локалізації і тривалості, проте генератори були відключені від мережі живлення.

Для оцінки модифікуючої дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ, налоксону, а також їх комбінованої дії на тривалість поведінкових реакцій в досліджених тестах був використаний коефіцієнт модифікації (КМ, умовна одиниця), який розраховувався по наступній формулі

$$\hat{E}\hat{I} = \frac{\tau_{\text{аєп}} - \tau_{\text{а}}}{\tau_{\text{а}}},$$

де $\tau_{\text{екс}}$ – тривалість поведінкової реакції при дії експериментальних дій (больового чинника, ЕМВ НВЧ, налоксону або їх комбінації), τ_6 – тривалість реакції при ізольованій дії больового чинника. Значення КМ близьке до нульового свідчить про відсутність модифікуючої дії вивченого експериментального чинника.

У описаних тестах тварини використовувалися одноразово, після чого вибували з експерименту. Враховуючи той факт, що у гризунів больовий поріг протягом доби варіює [17], експерименти проводилися в один і той же час світлої половини доби (з 9.00 до 11.00 годин).

Після перевірки даних на закон нормального розподілу, обробку і аналіз експериментальних даних проводили за допомогою параметричних методів. Як критерій оцінки достовірності спостережуваних змін використовували t-критерій Ст'юдента.

Експерименти проводилися з дотриманням принципів «Європейській конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і Постанови першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. Вплив введення налоксону на анальгетичний ефект НВЧ-дії при експериментально викликаному тонічному болі. Як показали результати дослідження, введення розчину формаліну викликало у щурів двофазну больову реакцію лизання кінцівки, в яку була зроблена ін'єкція загальною тривалістю $902,83 \pm 20,02$ с за 90 хвилин спостереження (рис. 1). Перша фаза больової реакції реєструвалася протягом перших десяти хвилин спостереження, її тривалість склала $145,67 \pm 12,00$ с. Відомо, що дана рання фаза, що триває перші 5-10 хвилин після ін'єкції, обумовлена виникненням компоненту гострого болю ФТ і пов'язана в основному з прямою активацією тонких нем'єлінових С-волокон, більшість з яких передає імпульсацію від больових рецепторів [12, 18]. Потім через 10 хвилин спостерігався розвиток другої фази, тривалість якої склала $757,17 \pm 23,46$ с. Друга тонічна фаза, що є результатом розвитку запального процесу в периферичних тканинах і змін функцій задніх рогів сірої речовини спинного мозку, де лежать нейрони больових висхідних шляхів [19] і, по суті, є тонічним компонентом поведінкової больової реакції, тривала 65 хвилин. Тривалості невольових поведінкових реакції у тварин, підданих ізольованій ін'єкції формаліну представлені у таблиці 1.

При додатковій внутрішньоочеревинній ін'єкції налоксону – антагоністу ОпР у тварин другої групи (Н+ФТ) реєструвалася збільшення загальної тривалості больової реакції на 25,78 % ($p < 0,01$) (тривалість першої гострої фази – на 8,56 % ($p > 0,05$), другої тонічної фази – на 28,97 % ($p < 0,02$)) відносно значень у тварин, підданих тільки ін'єкції формаліну (рис. 2). Аналіз тривалості невольових поведінкових проявів показав, що тривалість рухової активності мала тенденцію до збільшення, тоді як тривалість пасивної поведінки зменшилася на 11,45 % ($p < 0,05$) щодо значень даних показників у щурів першої групи (ФТ) (табл. 1). Отже, у щурів другої групи на фоні ін'єкції налоксону відбулося збільшення проявів больового стресу, на що вказує і підвищення КМ. до +0,28 умовних одиниць (рис. 3 – А). Отримані дані доводять роль опіоїдергічної

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОPIOЇДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ

системи в забезпеченні анальгетичної дії і узгоджуються з результатами інших досліджень [2, 20, 21].

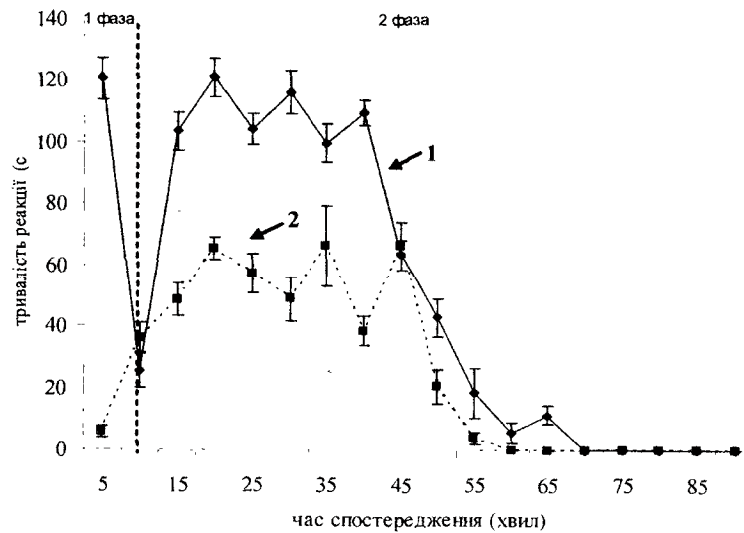


Рис. 1. Зміна тривалості больової реакції у щурів, підданих введенню 5 % розчину формаліну (1) і послідовній дії електромагнітного випромінювання надто високої частоти і формаліну (2).

При попередній дії ЕМВ НВЧ у тварин третьої групи (НВЧ+ФТ) спостерігалися достовірні зміни больових і небольових поведінкових реакцій відносно значень відповідних показників у тварин першої групи (ФТ). Так, загальна тривалість больової реакції зменшилася 46,12 % ($p < 0,001$). При цьому перша гостра фаза ФТ практично не розвивалася: відбулося не тільки суттєве зменшення її тривалості на 71,18 % ($p < 0,001$), але і зміна динаміки (рис. 2). Тривалість другої тонічної фази значно зменшилася – на 41,46 % ($p < 0,001$) в порівнянні з даним показником у тварин першої групи (ФТ). Затухання больової реакції реєструвалася з 55-ої хвилини після ін'єкції формаліну, тобто на 10 хвилин раніше, ніж у тварин першої групи. Отже, дія ЕМВ НВЧ значно знизила тривалість больової реакції в ФТ, на що вказує і негативне значення КМ. (-0,50 умовних одиниць) (рис. 3 – А).

Аналіз тривалості небольових поведінкових проявів показав, що рухова активність у щурів третьої групи підвищилася в 3,56 разу ($p < 0,001$), а пасивна поведінка, навпаки, мала тенденцію до зменшення щодо значень даних показників у щурів першої групи (ФТ) (табл. 1).

Таким чином, дія ЕМВ НВЧ значно зменшує тривалість больової реакції і збільшує тривалість рухової активності у щурів у ФТ, що сприяє зниженню емоційної реакції страху, розвитку адаптивної поведінки, що свідчить про антиноцицептивну дію цього фізичного чинника.

Таблиця 1.

Тривалість поведінкових реакцій (с) у щурів на фоні введення налоксону (Н) при ізольованому і комбінованому з дією низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти (НВЧ) дії больового фактору у «формаліновому тесті» (ФТ) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Поведінкові реакції	Експериментальні групи дії			
	ФТ (1)	Н+ФТ (2)	НВЧ+ФТ (3)	Н+НВЧ+ФТ (4)
Загальна больова реакція зокрема:	902,83±20,02	1155,67±25,67 $p_{1,2}<0,05$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	487,20±19,35 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,001$	794,33±20,79 $p_{1,4}<0,02$ $p_{3,4}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$
гостра фаза	145,67±12,00	156,33±11,84 $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	41,50±6,47 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,001$	158,00±9,63 $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,001$
тонічна фаза	757,17±23,46	999,33±16,60 $p_{1,2}<0,02$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	414,60±13,43 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$	636,33±13,35 $p_{1,4}<0,05$ $p_{3,4}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$
Біг	136,83±10,07	162,67±17,03 $p_{2,3}<0,001$	371,40±15,61 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,001$	78,08±27,80 $p_{3,4}<0,001$
Грумінг	16,00±5,37	34,75±13,35 $p_{2,3}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$	200,60±31,99 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$	228,00±18,19 $p_{1,4}<0,001$
Приймання їжі	0,85±0,37	0,25±0,17 $p_{2,3}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$	26,20±4,25 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,01$	15,00±2,00 $p_{1,4}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$
Сон	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Спокій	2523,83±24,26	2235,00±15,69 $p_{1,2}<0,05$ $p_{2,3}<0,01$	2514,60±27,91 $p_{2,3}<0,01$	2340,00±59,57 $p_{1,4}<0,05$

Примітка: p_{1-4} – достовірність відмінностей по критерію Ст'юдента при порівнянні з даними груп, позначеними в таблиці 1-4 відповідно.

На фоні ін'єкції налоксону дія ЕМВ НВЧ у тварин четвертої групи спричинила збільшення тривалості больової реакції на 60,44 % ($p<0,001$) (тривалість першої гострої фази збільшилася на 280,72 % ($p<0,001$), а другої тонічної фази – на 40,29 % ($p<0,01$)) в порівнянні із значеннями у щурів третьої групи (НВЧ+ФТ) (рис. 2). При цьому тривалість больової реакції наближувалась до такої у щурів, підданих ізольованій дії ФТ. Про це свідчить і значення КМ, близьке до нуля (-0,12 умовних одиниць) (рис. 3 – А). Тривалість першої гострої фази ФТ мала тенденцію до

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОПІОЇДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ

збільшення на 9,72 % ($p > 0,05$), тоді як тривалість другої тоничної фази збільшилася на 17,87 % ($p < 0,05$) відносно значень у тварин в першій групі (ФТ). Аналіз тривалості невеликих поведінкових проявів показав, що тривалість рухової активності збільшилася на 150,58 % ($p > 0,05$) щодо значень у тварин першої групи (ФТ), проте була менше на 29,40 % ($p < 0,05$) відносно значень даного показника у щурів третьої групи (НВЧ+ФТ). Тривалість пасивної поведінки у тварин четвертої групи мала тенденцію до збільшення щодо значень цього показника як у тварин першої (ФТ), так і третьою (НВЧ+ФТ) груп (табл. 1).

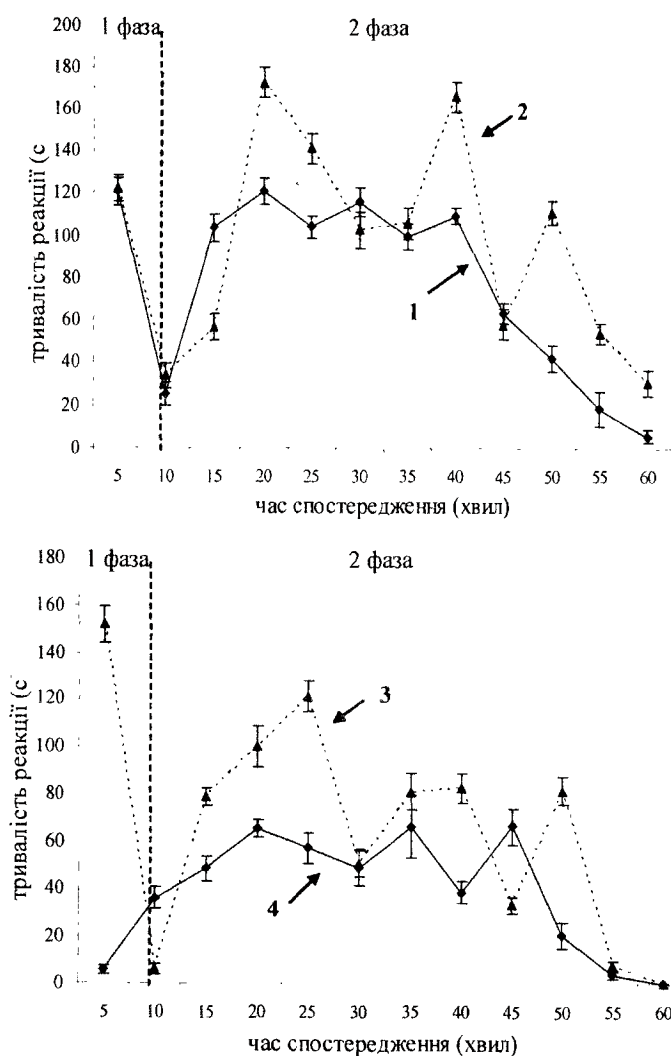


Рис. 2. Динаміка больової поведінкової реакції у щурів, викликаній введенням формаліну (1), а також формаліном при попередній внутрішньоочеревинній ін'єкції налоксону (2), дії електромагнітного випромінювання надто високої частоти (3) і їх комбінованій дії (4).

Таким чином, введення налоксону при експериментальному тонічному болю викликало нівеляцію анальгетического ефекту НВЧ-дії, наближуючи його значення до такого у тварин контрольної групи. Даний факт зміни тривалості больових і не больових поведінкових проявів в ФТ можна розцінити як доказ участі системних ендогенних ОпП в механізмі антиноцицептивної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ при тонічному больовому стресі.

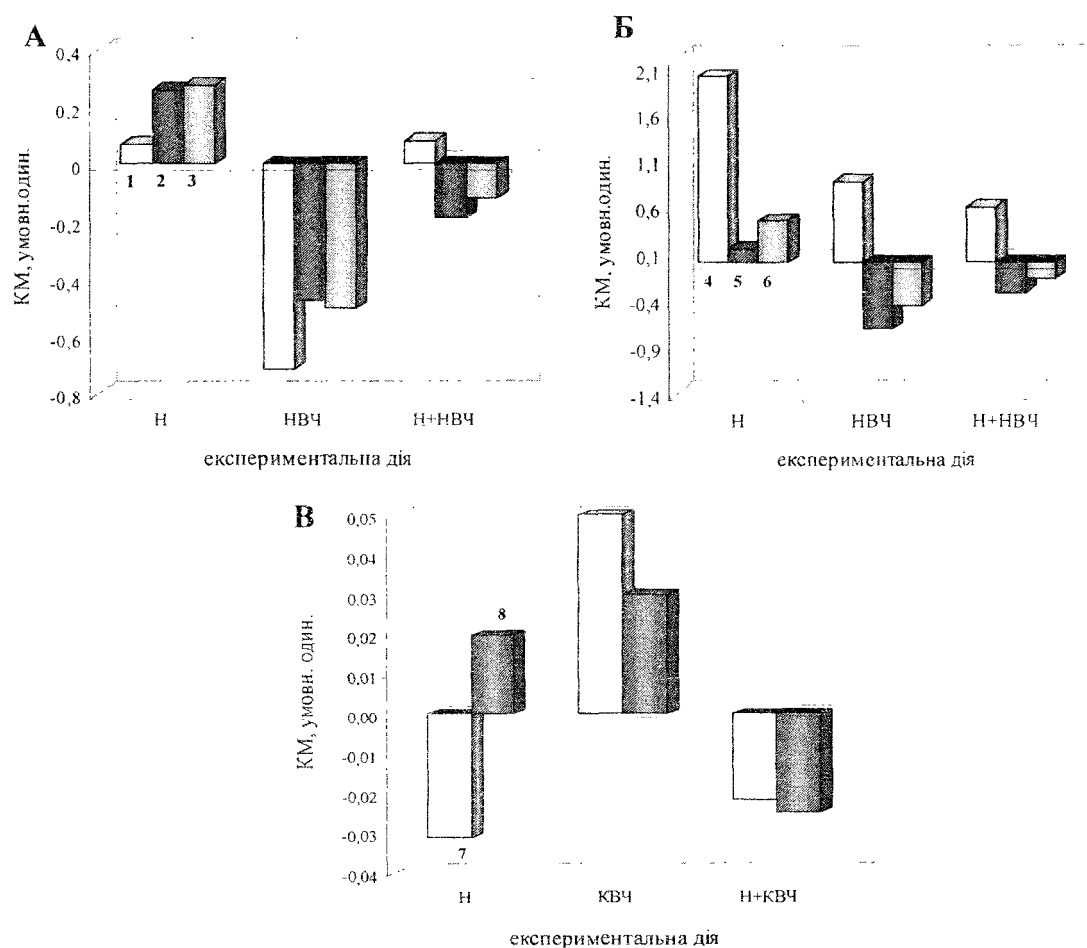


Рис. 3. Коефіцієнти модифікуючої дії (КМ., умовній одиниці) експериментальних факторів (введення налоксону (Н), дії електромагнітного випромінювання надто високої частоти (НВЧ) і їх комбінованої дії (Н+НВЧ)) на тривалість больової поведінкової реакції у щурів, де А – КМ першою гострою (1), другою тонічною фаз (2) і загальної больової реакції при тонічному болю; Б – КМ реакцій вилізання живота (4), корячання (5) і загальної больової реакції (6) при вісцеральному болю; В – КМ больового порогу (7) і рівня витривалості болю (8) при гострому термічному болю.

2. Вплив введення налоксону на анальгетичний ефект НВЧ-дії при експериментально викликаному вісцеральному болі. На відміну від тонічного болю, для якого найбільш яскравим проявом є лизання осередку болю, вісцеральний біль виявляється в характерних тонічних позах, таких, як бокові згинання тулуба, прогинання спини в дорсо-вентральному напрямку, витягання тулуба, тертя животом підлоги (корчів) і реакції вилизування живота. В результаті внутрішньоочеревинній ін'єкції 2% розчину оцтової кислоти, у щурів першої групи (ОТ) реєструвалася больова реакція загальною тривалістю $791,33 \pm 18,17$ с. При цьому тривалість реакцій вилизування живота і корчів склали $127,00 \pm 11,02$ с і $664,33 \pm 16,25$ с відповідно, тобто співвідношення больових реакцій вилизування живота і корячення у тварин першої групи склало 1 : 5. Тривалість не больових поведінкових реакцій у тварин першої групи представлена в таблиці 2.

Додаткова внутрішньоочеревинна ін'єкція розчину налоксону щурам другої групи (Н+ОТ) викликала збільшення тривалості больової реакції на 45,26 % ($p < 0,001$) (збільшилася тривалість як реакції вилизування живота – на 200,79 % ($p < 0,001$), так і реакції корчів – на 15,53 % ($p < 0,01$)) у порівнянні із значеннями у тварин, підданих тільки ін'єкції оцтової кислоти (табл. 2). На збільшення тривалості проявів вісцерального болю в ОТ під впливом попереднього введення налоксону вказує і збільшення КМ до +2,01 умовних одиниць (рис. 3 – Б). При цьому після ін'єкції налоксону змінилося і співвідношення тривалості больових реакцій вилизування живота та корчів і складало 1 : 2.

У тварин цієї групи змінилася тривалість і не больових поведінкових проявів. Так, тривалість рухової активності зменшилася в 18,31 разу ($p < 0,001$) (реакції бігу – в 32,57 разу ($p < 0,001$), грумінга – в 9,91 разу ($p < 0,001$), приймання їжі – в 6,04 разу ($p < 0,001$)), пасивної поведінки – в 1,29 разів ($p < 0,001$) щодо значень відповідних показників у тварин, підданих ізольованій ін'єкції оцтової кислоти (табл. 2). Слід зазначити, що для тварин даної групи велику частину часу реакції спокою складала реакція затаювання і вимушеної больової пози. Таким чином, блокада ОпР за допомогою введення налоксону привела до збільшення больової чутливості у тварин в ОТ.

Попередня НВЧ-дія достовірно зраджувала тривалості больових і не больових поведінкових проявів після ін'єкції розчину оцтової кислоти у щурів третьої групи (НВЧ+ОТ). Після одноразової дії ЕМВ НВЧ загальна тривалість больових реакцій у щурів цієї групи зменшилася на 45,03 % ($p < 0,001$) відносно значень цього показника у тварин першої групи, про що свідчить і зменшення КМ до -0,45 умовних одиниць (рис. 3 – Б). При цьому тривалість вивчених больових реакцій змінювалася різноманітно: тривалість реакції вилизування живота збільшилася в 1,88 разу ($p < 0,001$), а тривалість больової реакції корчів, навпаки, зменшилася в 3,38 разу ($p < 0,001$) в порівнянні із значеннями відповідних показників у тварин в першій групі (ОТ) (табл. 2). Підтвердженням різноманітної зміни больових реакцій є і значення КМ відповідних больових реакцій (+0,88 і -0,70 умовних одиниць) (рис. 3 – Б) і співвідношення больових реакцій вилизування живота і корчів, яке склало 1 : 1.

Таблиця 2.

Тривалість поведінкових реакцій (с) у щурів на фоні введення налоксону (Н) при ізолюваному і комбінованому з дією низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти (НВЧ) дії больового чинника в «оцтовом тесті» (ОТ) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Поведінкові реакції	Експериментальні групи дії			
	ОТ (1)	Н+ ОТ (2)	НВЧ+ ОТ (3)	Н+НВЧ+ ОТ (4)
Загальна больова реакція	791,33±18,17	1149,50±44,50 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	435,00±17,00 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$	654,67±27,72 $p_{1,4}<0,02$ $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$
Зокрема: вилузування живота	127,00±11,02	382,00±30,00 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	238,50±11,50 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$	203,33±25,39 $p_{1,4}<0,05$ $p_{2,4}<0,001$
корячення	664,33±16,25	767,50±14,50 $p_{1,2}<0,01$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	196,50±5,50 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,001$	451,33±20,74 $p_{1,4}<0,02$ $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,001$
Біг	651,33±46,28	20,00±8,00 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$	299,50±64,50 $p_{1,3}<0,02$ $p_{2,3}<0,01$ $p_{3,4}<0,05$	482,00±17,94 $p_{1,4}<0,05$ $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,05$
Грумінг	213,00±11,50	21,50±1,50 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$	276,00±30,00 $p_{2,3}<0,001$	227,00±24,01 $p_{2,4}<0,001$
Приймання їжі	51,33±11,80	8,50±1,50 $p_{1,2}<0,05$ $p_{2,3}<0,05$ $p_{2,4}<0,05$	20,00±4,00 $p_{1,3}<0,01$ $p_{2,3}<0,05$ $p_{3,4}<0,01$	51,00±9,48 $p_{2,4}<0,05$ $p_{3,4}<0,01$
Сон	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Спокій	1858,00±26,06	2400,50±49,50 $p_{2,4}<0,05$	2590,50±94,50 $p_{1,3}<0,01$	2185,33±34,14 $p_{1,4}<0,05$ $p_{2,4}<0,05$

Примітка: $p_{1,4}$ – достовірність відмінностей по критерію Ст'юдента при порівнянні з даними груп, позначеними в таблиці !-4 відповідно.

Таким чином, ін'єкція оцтової кислоти щурам, які заздалегідь піддавалися НВЧ-дії привела до інверсії зміни тривалості больових реакцій в порівнянні з тваринами, які додатково не піддавалися дії ЕМВ НВЧ: тривалість реакції вилузування живота збільшилася на фоні зменшення тривалості больової реакції корчів. Оскільки реакція корчів свідчить про інтенсивніше протікання больової реакції в порівнянні з реакцією вилузування живота і відбулося зменшення загальної тривалості больової

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОPIOДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ

реакції у тварин, підданих додатковій НВЧ-дії, то отримані дані свідчать про антиноцицептивну дію ЕМВ НВЧ і при вісцеральному болі.

Тривалість невольових поведінкових проявів у щурів третьої групи також достовірно змінювалася. Так, тривалість рухової активності зменшилася на 34,97 % ($p < 0,01$) (реакції бігу – на 54,02 % ($p < 0,02$), приймання їжі – на 61,04 % ($p < 0,01$)), а тривалість реакції грумінгу, навпаки, збільшилася на 29,58 % ($p > 0,05$) на фоні збільшення тривалості пасивної поведінки на 39,41 % ($p < 0,01$) відносно відповідних значень у тварин в першій групі (ОТ) (табл. 2). Зменшення тривалості рухових невольових поведінкових проявів у щурів після дії ЕМВ НВЧ узгоджується з результатами наших попередніх досліджень, в яких показано гальмування рухової активності і зниження збудливості в центральній нервовій системі у щурів в тесті «відкритого поля» після НВЧ-дії [9]. Мабуть, розвитком гальмівних процесів в центральній нервовій системі, що відбувається під впливом ЕМВ НВЧ, пояснюється його загальний седативний вплив на організм [13, 22].

У тварин четвертої групи, що підвергалися додатковій ін'єкції налоксону попередня дія низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ викликала збільшення тривалості больової реакції на 39,69 % ($p < 0,01$) (тривалість реакції корчів збільшилася на 105,77 % ($p < 0,001$), а вилузування живота, навпаки зменшилася на 14,74 % ($p > 0,05$)) щодо значень у тварин підданих дії ЕМВ НВЧ і ін'єкції оцтової кислоти. При цьому тривалість больових реакцій більшою мірою наближувалася до таких у щурів, які піддавалися лише ін'єкції оцтової кислоти (загальна тривалість больової реакції зменшилася на 23,20 % ($p < 0,02$); тривалість реакції вилузування живота збільшилася на 60,10 % ($p < 0,05$), а корчів, навпаки, зменшилося на 39,14 % ($p < 0,02$)) (табл. 2). Підтвердженням модифікуючої дії налоксону на зміну тривалості больових реакцій під впливом НВЧ-дії є КМ, який склав -0,17 умовних одиниць (КМ реакції вилузування живота і корчів – +0,60 і -0,32 умовних одиниць відповідно) (рис. 3 – Б). Співвідношення тривалості больових реакцій вилузування живота і корячення у тварин четвертої групи склало 1 : 2, тобто відповідало такому у тварин другої групи (Н+ ОТ), які додатково не піддавалися НВЧ-дії.

Аналіз невольових поведінкових проявів показав, що тривалість рухової активності збільшилася на 27,62 % ($p < 0,05$), а пасивної поведінки мала тенденцію до зменшення щодо значень даних показників у тварин третьої групи (НВЧ+ОТ). При цьому тривалість вивчених больових і невольових поведінкових реакцій з великою мірою достовірності наближувалася до значень цих показників в першій групі тварин (ОТ) (табл. 2).

Таким чином, введення налоксону при експериментальному вісцеральному болі також привело до зменшення антиноцицептивного ефекту НВЧ-дії, наближуючи його значення до відповідного значення у тварин, підданих ізольованій дії больового чинника, що є підтвердженням участі опіодергічної системи в механізмах анальгетичної дії ЕМВ НВЧ при вісцеральному болі.

3. Вплив введення налоксону на анальгетичний ефект НВЧ-дії при експериментально викликаному гострому термічному болі. У тесті «гаряча пластина» при моделюванні гострого термічного болю у щурів першої групи (ТГП) БП і РВБ склали $47,09 \pm 0,11$ С і $50,47 \pm 0,46$ С відповідно (рис. 4). У тварин другої

групи (Н+ТГП) під впливом введення налоксону БП зменшився на 3,14 % ($p < 0,02$), а РВБ, навпаки, мав тенденцію до збільшення (на 1,98 %; $p > 0,05$) щодо значень цих показників у тварин, які піддавалися ізольованій дії термічного больового чинника. На зміну больовій чутливості у щурів на фоні введення налоксону вказує і КМ БП і РВБ, які відповідно склали $-0,03$ і $+0,02$ умовних одиниць (рис. 3 – В). У тварин третьої групи, які заздалегідь піддавалися НВЧ-дії (НВЧ+ТГП) БП та РВБ збільшилися на 4,37 % ($p < 0,01$) і 3,96 % ($p < 0,01$) відповідно в порівнянні з даними показниками у щурів першої групи (ТГП), про що свідчить і збільшення КМ до $+0,05$ і $+0,03$ умовних одиниць.

При додатковому введенні налоксону тваринам четвертої групи (Н+НВЧ+ТГП) дія ЕМВ НВЧ, навпаки, викликала зменшення БП і РВБ на 6,31 % ($p < 0,001$) і 6,23 % ($p < 0,01$) відповідно щодо значень цих показників у щурів, які піддавалися комбінованій дії НВЧ-випромінювання і больового чинника (рис. 4). В порівнянні із значеннями у тварин першої групи (ТГП) БП і РВБ були менше на 2,19 % ($p > 0,05$) і 2,51 % ($p > 0,05$) відповідно, на що вказують і негативні значення КМ ($-0,02$ і $-0,03$ умовних одиниць) (рис. 3 – В).

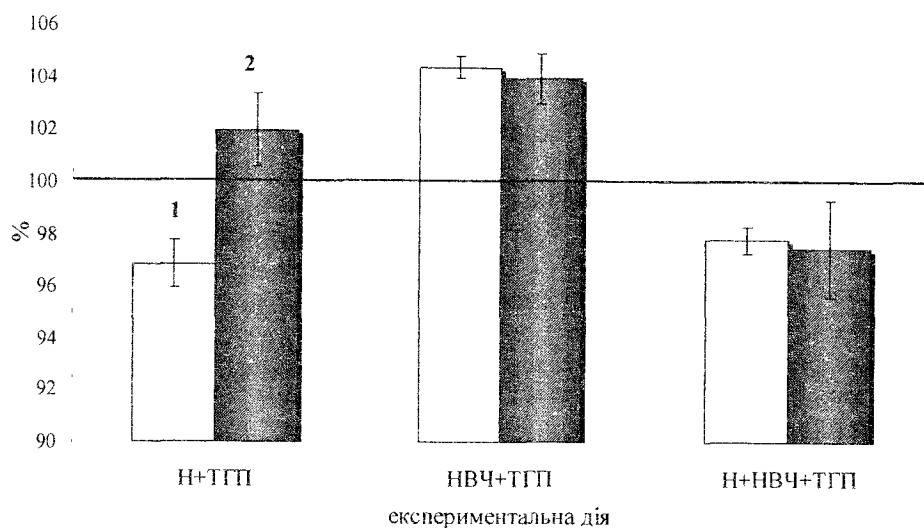


Рис. 4. Зміна больового порогу (1) і рівня витривалості болю (2) у щурів в тесті «гаряча пластина» (ТГП), на фоні попередньої ін'єкції налоксону (Н+ТГП), дії електромагнітного випромінювання надто високої частоти (НВЧ+ТГП), а також їх комбінованої дії (Н+НВЧ+ТГП) (у %, відносно значень у щурів, які піддавалися ізольованою дією больового чинника, прийнятих за 100 %)

Таким чином, внутрішньоочеревинне введення налоксону привело до зменшення антиноцицептивної дії ЕМВ НВЧ при гострому термічному болю, що також доводить участь опіодергічної системи в механізмах анальгетичної дії ЕМВ НВЧ при даному больовому чиннику.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОПІОІДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ

Отже, при додатковій ін'єкції блокатора ОпР – налоксону спостерігалось зменшення анальгетичного ефекту низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ при больових стресах, викликаних підшкірним введенням формаліну, внутрішньоочеревинної ін'єкції оцтової кислоти і термічною дією. Відомо, що регуляція больової чутливості забезпечується інтеграційним комплексом механізмів, що мають вибірково, динамічну нейрохімічну та нейроморфологічну структуру, яка визначається видом больового чинника. Зокрема, механізм розвитку гострого больового синдрому при термічній дії включає емоційну реакцію на біль, в цій моделі болю провідну роль відіграють центральні механізми формування больової реакції. При роздратуванні черевної порожнини оцтовою кислотою на перший план виступають гуморальні механізми больової чутливості. У разі ж використання ФТ, що імітує хронічне больове роздратування унаслідок утворення запального процесу в тканинах і зміни функції нейронів дорсальних рогів спинного мозку – центральні механізми аферентації в умовах ноцицепції і антиноцицепції [5]. Тому отримані результати свідчать на користь певної універсальності анальгетичної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ на організм і доводять участь опіоїдергічної системи в даних антиноцицептивних механізмах.

Відомо, що опіоїдергічна система є однією з найважливіших систем, що беруть участь в реалізації больової чутливості. ОпП і ОпР виявлені в клітинах різних відділів головного мозку, в спинному мозку, периферичних відділах нервової системи, а також в хромафіних клітинах надниркових залоз, кишечнику [23]. При больовому стресі відбувається утворення і виділення ОпП в місцях їх синтезу і зростає їх вміст в різних відділах мозку і в крові. Це супроводжується такими захисними явищами, як підвищення больового порогу і розвиток аналгезії, зміна поведінки, гіпертермія і ін., причому вказані явища попереджаються блокаторами ОпР або інгібіторами синтезу ОпП [24].

На залученість опіоїдергічної системи в реалізацію антиноцицептивних ефектів і зниження стану напруженості під впливом низькоінтенсивних ЕМВ НВЧ вказується багатьма дослідниками [22, 25, 26]. Із зміною активності ендогенних ОпП пов'язують, зокрема, знеболюючий ефект і зниження стану напруженості під впливом низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ [22, 26]. Також було виявлено, що різні нейрохімічні зміни, що відбуваються в головному мозку щурів під дією мікрохвильового випромінювання низької інтенсивності (1 мВт/см² і нижче), блокувалися попереднім введенням налоксону [26]. Крім того, показано, що курс голкорексотерапії і електроакупунктура також приводить до підвищення в крові β-ендорфіна, тобто до активації опіоїдергічної системи [27]. Тому природно припустити, що активація системи ендогенних ОпП є неспецифічною реакцією організму на низькоінтенсивні дії.

В даний час важко вичерпно пояснити механізми антиноцицептивної дії ЕМВ НВЧ. Проте, виходячи з власних і літературних даних, участь опіоїдергічної системи в антиноцицептивному ефекті низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ можна уявити таким чином.

Відомо, що практично все ЕМВ НВЧ поглинається в шкірі на глибині до 1 мм [13, 28]. Отже, під безпосередню дію випромінювання потрапляють кровonosні і лімфатичні судини, клітини імунної системи (шкіряне депо Т-лімфоцитів), дифузної

нейроендокринної системи (ДНЕС, APUD-системи), різноманітні рецептори (механо-, термо-, ноцицептори), нервові закінчення, периферичні нерви, а також біологічно активні точки. У нашому дослідженні локалізація дії ЕМВ НВЧ здійснювалася на потилично-комірну область, яка є однією з основних рефлексогенних зон, в якій виявлена велика кількість рецепторних закінчень, мікроциркуляторних та лімфатичних судин, біологічно активних точок, огрядних клітин, тобто саме тих елементів, які в даний час розглядаються як первинні мішені для хвиль міліметрового діапазону [30]. Показано також, що первинне сприйняття ЕМВ НВЧ може здійснюватися опіоїдними рецепторами, що вказує на систему ендогенних опіоїдів як можливу мішень НВЧ-випромінювання [31]. Зокрема, відомо, що на плазматичній мембрані імунокомпетентних клітин, зокрема, і лімфоцитів, є ОпР [32], а самі клітини можуть синтезувати і виділяти ОпП, які здійснюють взаємодію між імунною, нервовою і ендокринною системами. У наших попередніх дослідженнях було переконливо доведено, що ЕМВ НВЧ підвищує функціональну активність лімфоцитів і нейтрофілів при зниженні їх рівня, викликаному дією стресс-факторів, і надає ефект праймінгу при нормальних початкових показниках, що приводить до збільшення функціонального потенціалу лейкоцитів і сприяє підвищенню резистентності організму до подальшої дії ушкоджувальних агентів [9, 33]. Тому логічно припустити, що після НВЧ-дії збільшується вивільнення ОпП з праймірованих і активованих лімфоцитів периферичної крові.

Крім того, відомо, що в зону прямої дії міліметрового випромінювання потрапляють рецептори (механо-, ноцицептори), вільні нервові закінчення [13, 29]. Можна припустити, що периферична активація антиноцицептивних механізмів за допомогою ЕМВ НВЧ можлива, якщо в ролі чутливого рецептора виступають ноцицептори, які за даними Н.Н. Лебедевої (2004) [13] беруть участь в сприйнятті ЕМВ НВЧ. Ноцицептивна інформація через задні роги спинного мозку потрапляє в головний мозок. Можливо, через інтернейрони спинного мозку відбувається активація опіоїдергічної системи головного мозку, яка об'єднує нейрони в гіпоталамусі і секреторні клітини в гіпофізі, що продукують ОпП і що є однією з центральних стрес-лімітуючих систем організму. Гальмівна дія ОпП на катехоламінову ланку стресс-реалізуючої системи здійснюється не тільки у ЦНС, але і на периферії. Виділення ОпП в значних кількостях приводить до обмеження вироблення катехоламінів наднирковими залозами. Так, по механізму зворотного зв'язку знижується вираженість стресс-реакції та її ушкоджувальні ефекти [22, 27].

Таким чином, отримані результати свідчать про участь опіоїдергічної системи в механізмі антиноцицептивної і антистрессової дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ. Дані цього дослідження дозволяють розширити уявлення про механізми біологічної дії ЕМВ НВЧ і можуть бути використані для підвищення ефективності НВЧ-терапії як монотерапії і при комплексному медикаментозному і немедикаментозному лікуванні больового синдрому.

ВЫВОДЫ

1. Досліджена роль опіоїдергічної системи в механізмі антиноцицептивної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ (7,1 мм; 0,1 мВт/см²) при больовому стресі різного походження у щурів.
2. Блокада опіоїдних рецепторів за допомогою введення налоксону при експериментальному тонічному болі викликало нівеляцію анальгетического ефекту НВЧ-дії, наближуючи його значення до такого у тварин контрольної групи, що свідчить як доказ участі системних ендогенних ОпП в механізмі антиноцицептивної дії низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ при тонічному больовому стресі.
3. Введення налоксону при експериментальному вісцеральному болі також привело до зменшення антиноцицептивного ефекту НВЧ-дії, наближуючи його значення до відповідного значення у тварин, підданих ізольованій дії больового чинника, що є підтвердженням участі опіоїдергічної системи в механізмах анальгетичної дії ЕМВ НВЧ при вісцеральному болі.
4. Внутрішньоочеревинне введення налоксону привело до зменшення антиноцицептивної дії ЕМВ НВЧ при гострому термічному болі, що також доводить участь опіоїдергічної системи в механізмах анальгетичної дії ЕМВ НВЧ при даному больовому чиннику

Список литературы

1. Лиманский Ю.П. Рефлексы ствола головного мозга. - Киев, 1987. - 240 с
2. Holaday J. W. Cardiovascular consequences of endogenous opiate antagonism // *Biochem. Pharmacol.* — 1983. — V. 32, № 4. — P. 573—585.
3. Fields H.L., Basbaum A.I. Central nervous system mechanisms of pain modulation. — In: *Textbook of Pain* (Wall PD, Melzack R, eds). — Edinburgh: Churchill Livingstone, 1999. — P. 309-329.
4. Przewlocki R., Przewlocka B. Opioids in chronic pain. // *Eur J Pharmacol.* — 2001. — 429. — P. 79-91.
5. Брагин Е.О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности. — М.: Изд-во Ун-та дружбы народов, 1991. — 247 с.
6. Chance W.T., Rosecrans J.A. Lack of effect of naloxone on autoanalgesia // *Pharmacol. Biochem. Behav.* — 1980. — Vol. 11. — P. 643-646.
7. Rodgers R.J., Deacon R.M. Footshock-analgesia: prevention by behavioural manipulation but not by naloxone // *Physiol Behav.* — 1981. — V. 26(2). — P. 183-187.
8. Джелдубаева Э.Р., Чуян Е.Н., Московских А.А. Предварительное антистрессорное действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты при экспериментальном болевом стрессе у крыс // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* — 2005. — Т. 18 (57), № 3. — С. 56-65.
9. Чуян Е.Н. Нейроімуноендокринні механізми адаптації до дії низько інтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти // *Автореф. дис... докт. біол. наук.* — Київ, 2004. — 40 с.
10. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями // *Автореф. дисс. канд-та биол. наук.*— Симферополь, СГУ, 1992. — 20 с.
11. Сантана Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс // *Автореф. дис. канд. биол. наук.* — Симферополь, СГУ, 1991. — 21 с.
12. Dubuisson D., Dennis S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats. // *Pain.* — 1997. — Vol. C 4. — P. 161-164.

13. Лебедева Н.Н., Котровская Т.И. Экспериментально-клинические исследования в области биологических эффектов миллиметровых волн // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2003. – № 3 (15). – С. 3-15.
14. Dogrul B., Bilsky E.J., Ossipov M.H., Lai J., Porreca F. Spinal I-type calcium channel blockade abolishes opioid-induced sensory hypersensitivity and antinociceptive tolerance // *Anesth. Analg.* – 2005. – 101(6). – P. 1730 - 1735.
15. патент
16. Джелдубаева Э.Р., Чуян Е.Н., Московских А.А. Предварительное антистрессорное действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты при экспериментальном болевом стрессе у крыс // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2005. – Т. 18 (57), № 3. – С. 56-65.
17. Golombek D.A., Escobar E., Burin L.J. et al. Time-dependent melatonin analgesia in mice: inhibition by opiate or benzodiazepine antagonist // *Eur. J. Pharmacol.* – 1991. – 194, № 1. – P. 25-30.
18. Oyama T., Ueda Y., Kuraishi Y., Akaike A., Satou V. Dual effect of serotonin on formalin-induced nociception in the rat spinal cord // *Neuroscience Research.* – 1996. – С 25. – P. 129-135.
19. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response // *Pain.* – 1989. – 38, № 3. – P. 347-352.
20. Mogil J.S., Sternberg W.F., Balian H., Liebeskind J.C., Sadowski B. Opioid and nonopioid swim stress-induced analgesia: a parametric analysis in mice // *Physiol Behav.* – 1996. – 59. – P. 123-132.
21. Xu M., Petraschka M., McLaughlin J., Westenbroek R.E., Caron M.G., Lefkowitz R.J., Czyzyk T.A., Pintar J.E., Terman G.W., Chavkin C. Neuropathic pain activates the endogenous opioid system in mouse spinal cord and induces opioid receptor tolerance// *J. Neurosci.* – 2004. – 24(19). – P. 4576 – 4584.
22. Lai Y., Horita A., Chou C.K., Guy A.W. Low-level microwave irradiation attenuates naloxone-induced withdrawal syndrome in morphine-dependent rats // *Pharmacol. Biochem. and Behav.* – 1986. – Vol. 24, № 1. – P. 151-153.
23. Демидов В.М. Эндогенні опіоїди в регуляції гомеостазу в умовах норми і при патології // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1 (3). – С. 11-19.
24. Millan M.J., Millan M.H., Herz A. Lesion of the ventral noradrenergic bundle produce a naloxone-reversible antinociception and affect. ram and pituitary pools of β -endorphin // *Pain.* – 1981. – Vol. 10, № 1. – P.104.
25. Ковешников В.Г., Лунин В.И., Недоступ Н.Ф., Чистолинова Л.И. и др. Оценка репаративной регенерации кости по данным макроэлементного анализа в условиях облучения электромагнитными волнами крайне высокой частоты // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2000. - № 2. – С. 116-117.
26. Кулікович Ю.М., Тамарова З.А. Роль опіатних рецепторів в анальгезії, викликаній дією на точку акупунктури низькоінтенсивних міліметрових хвиль // Мед. перспективи. – 1999. – Т. 4, № 3. – С. 9-14.
27. Меерсон Ф.З., Ишеникова М.Г., Кузнецова Б.А. Развитие адаптации к стрессу в результате курса транскраниальной электростимуляции // *Бюл. exper. биол. и мед.* – 1994. – № 1. – С. 16-18.
28. Бецкий О.В., Яременко Ю.Г. Кожа и электромагнитные волны // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1998. – № 1 (11). – С. 3-14.
29. Бецкий О.В., Лебедева Н.Н. Современные представления о механизмах воздействия низкоинтенсивных миллиметровых волн на биологические объекты // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2001. – № 3 (24). – С. 5-19.
30. Plotnikoff N.P., Faith R., Murgu A.J., Good R. Enkephalins and Endorphins // *Stress and the Immune System.* – Plenum Press, New York. - 1986. – P. 67.
31. Gordienko O., Radzievsky A., Cowan A., Radzievsky A. Jr., Ziskin M.C. Delta 1 and kappa-opioid receptor subtypes involved in the hypoalgesic effect of millimeter wave treatment // Abstract Juenty-Fourth Annual Meeting in Cooperation with the European Bioelectromagnetics Association. – Canada, Ottawa, 2002. – P. 27.

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОПІОІДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ

32. Maestroni G.J.M., Conti A. Anti-stress role of the melatonin – immunopioid network. Evidence for a physiological mechanism involving T-cell-derived, immunoreactive β -endorphin and met. Enkephalin binding to thymic opioid receptors // Int. J. Neurosci. – 1991– Vol. 61. – P. 1-10.
33. Чуян Е.Н., Махонина М.М., Заячникова Т.В. Влияние блокирования системы опиоидных пептидов на измененные эмоционально-поведенческих реакций крыс, вызываемые действием электромагнитного излучения крайне высокой частоты в условиях нормы и гипокинетического стресса // Нейрофизиология / Neurophysiology. –2006. – Т. 38, № 1. – С.52-60.

Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р. Исследование роли опиоидергической системы в механизмах антиноцицептивного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия „Биология, химия”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 91-107.

Исследована роль опиоидергической системы в механизме антиноцицептивного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ) при тонической, висцеральной и острой термической боли у крыс. Полученные результаты свидетельствует в пользу определенной универсальности анальгетического воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на организм и доказывает участие опиоидергической системы в механизме антиноцицептивного и антистрессорного действия данного физического фактора. Данные этого исследования позволяют расширить представления о механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ и могут быть использованы для повышения эффективности КВЧ-терапии.

Ключевые слова: низкоинтенсивное электромагнитное излучение крайне высокой частоты, антиноцицептивное действие, налоксон.

Chuyan E.N., Dzheldubayeva E.R. Research of role opioidergic systems in the mechanisms of antinociceptive action of low intensity electromagnetic electromagnetic irradiations of extremely high frequency // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 91-107.

The role of the opioidergic system is explored in the mechanism of antinociceptive action of low intensity of electromagnetic irradiation of extremely high frequency (EMI EHF) at tonic, visceral and sharp thermal pains for rats. Received results testifies in behalf on certain universality of analgetic effect influence of low intensity EMI EHF on an organism and proves participating of the opioidergic system in the mechanism of antinociceptive and antistress actions of this physical factor. Information of this research allow to extend picture of mechanisms of biological action of EMI EHF and can be used for the increase of efficiency of EHF-therapy.

Keywords: of low intensity of electromagnetic irradiation of extremely high frequency, antinociceptive action, naloxon.

Поступила в редакцию 12.07.2007 г.

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

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

Серия «Биология, химия». Том 20 (59). 2007. № 2. С. 108-120.

УДК 543.257:681.142.2

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СЛУЧАЙНЫХ ПОГРЕШНОСТЕЙ ПАРАМЕТРОВ КРИВОЙ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ: ТИТРОВАНИЕ СИЛЬНОЙ КИСЛОТЫ

Кропотов В.А.

Метод, предложенный автором для прогнозирования неопределенностей параметров кривой потенциометрического титрования, сравнивается с двумя обычными методами, такими как повторные титрования и сумма квадратов отклонений. Как показано в случае титрования сильной кислоты, этот метод имеет значительные преимущества при планировании оптимального эксперимента.

Ключевые слова: Потенциометрическое титрование, прогнозирование погрешностей, титрование сильной кислоты

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущей статье [1] был предложен метод прогнозирования стандартных отклонений (неопределенностей) параметров потенциометрического титрования по известным стандартным отклонениям исходных данных (E и V). Его достоинством является возможность дифференцировать воздействие случайных погрешностей измерения на рассчитываемые величины по единичному титрованию и тем самым облегчить выбор оптимальных условий титриметрического эксперимента.

Целью данной работы является сравнение предлагаемого метода с двумя обычными методами, основанными, соответственно, на повторных титрованиях и сумме квадратов отклонений, на примере титрования сильной кислоты сильным основанием

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки стандартных отклонений (неопределенностей) параметров нелинейных зависимостей, в частности, кривой потенциометрического титрования обычно применяют два метода.

Первый метод [2] заключается в расчете для каждой кривой в серии одинаковых титрований ее параметров и нахождении по их разбросу значений искомых величин:

$$\sigma_{U_i}^2 \approx \frac{\sum_{k=1}^l (\hat{U}_{i,k} - U_i)^2}{l-1} \quad (1)$$

где $\hat{U}_{i,k}$ – оценка параметра U_i ($i=1, 2, \dots, m$; m – число определяемых параметров) кривой титрования в k -м титровании в серии из l титрований; \bar{U}_i – среднее значение i -го параметра.

Согласно [2], при достаточно большом числе повторных титрований этот метод является самым надежным, но из-за значительных затрат времени его в основном применяют в лабораторных исследованиях.

Второй метод [2 - 5] основан на вычислении $\sigma_{U_i}^2$ из суммы квадратов отклонений

$$Q = \sum_j \phi_j (\hat{E}_j - E_j)^2, \quad (2)$$

согласно формуле

$$\sigma_{U_i}^2 \approx \frac{Q}{n-m} P_{ii}^{-1}. \quad (3)$$

Здесь n – число точек на кривой титрования; P_{ii}^{-1} – i -й диагональный элемент обратной матрицы

$$P_{ih} = \sum_{j=1}^n \phi_j \frac{\partial E_j}{\partial U_i} \frac{\partial E_j}{\partial U_h};$$

\hat{E}_j и E_j – измеренное и рассчитанное значения потенциала (или pX) в j -ой точке кривой титрования соответственно; ϕ_j – вес \hat{E}_j , который полагают либо равным единице (простая нелинейная регрессия, ПНЛР), либо рассчитывают по формуле

$$\phi_j = \sigma_{E_j}^2 \approx \sigma_E^2 + \left(\frac{\partial E_j}{\partial V} \right)^2 \sigma_V^2; \quad (4)$$

σ_E^2 и σ_V^2 – дисперсии, характеризующие, соответственно, погрешности измерения потенциала и дозирования объема титранта (предполагается, что обе погрешности постоянны, независимы и подчиняются нормальному закону распределения). Схему обработки данных, в которой веса ϕ_j рассчитывают по формуле (4), далее будем называть взвешенной нелинейной регрессией (ВНЛР).

Характерной особенностью второго метода является его чувствительность к неадекватности используемой модели.

Предложенный в работе [1] способ базируется на решении системы линейных уравнений

$$\begin{aligned} A_{11}\sigma_{U_1}^2 + A_{12}\sigma_{U_2}^2 + \dots + A_{1m}\sigma_{U_m}^2 &= (\sigma'_{U_1})^2, \\ A_{21}\sigma_{U_1}^2 + A_{22}\sigma_{U_2}^2 + \dots + A_{2m}\sigma_{U_m}^2 &= (\sigma'_{U_2})^2, \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \vdots \\ & A_{m1}\sigma_{U_1}^2 + A_{m2}\sigma_{U_2}^2 + \dots + A_{mm}\sigma_{U_m}^2 = (\sigma'_{U_m})^2, \end{aligned} \quad (5)$$

где

$$\begin{aligned} & A_{ii} = 1, \\ & A_{ih} = - \frac{\left[\sum_j \left(\phi_j \frac{\partial E_j}{\partial U_i} \cdot \frac{\partial E_j}{\partial U_h} \right) \right]^2}{\left[\sum_j \phi_j \left(\frac{\partial E_j}{\partial U_i} \right)^2 \right]^2} \quad (i \neq h), \\ & (\sigma'_{U_i})^2 = \frac{\sum_j \left(\phi_j \frac{\partial E_j}{\partial U_i} \right)^2 \sigma_{E_j}^2}{\left[\sum_j \phi_j \left(\frac{\partial E_j}{\partial U_i} \right)^2 \right]^2}, \end{aligned}$$

Стандартное отклонение σ'_{U_i} отражает непосредственное воздействие погрешностей измерения на U_i , а коэффициенты A_{hi} и A_{ih} учитывают корреляцию параметров U_i и U_h .

Значение $\sigma_{U_i}^2$ можно также рассчитать по формуле

$$\sigma_{U_i}^2 = (\sigma_{U_i}^E)^2 + (\sigma_{U_i}^V)^2 = (k_{U_i}^E)^2 \sigma_E^2 + (k_{U_i}^V)^2 \sigma_V^2, \quad (6)$$

где $k_{U_i}^E$ и $k_{U_i}^V$ – общие коэффициенты "передачи" случайных погрешностей потенциала и дозирования объема титранта, которые являются решениями соответственно двух линейных уравнений

$$\begin{aligned} & A_{11}(k_{U_1}^E)^2 + A_{12}(k_{U_2}^E)^2 + \dots + A_{1m}(k_{U_m}^E)^2 = (g_{U_1}^E)^2, \\ & A_{21}(k_{U_1}^E)^2 + A_{22}(k_{U_2}^E)^2 + \dots + A_{2m}(k_{U_m}^E)^2 = (g_{U_2}^E)^2, \\ & \vdots \\ & A_{m1}(k_{U_1}^E)^2 + A_{m2}(k_{U_2}^E)^2 + \dots + A_{mm}(k_{U_m}^E)^2 = (g_{U_m}^E)^2, \end{aligned} \quad (7)$$

и

$$\begin{aligned} & A_{11}(k_{U_1}^V)^2 + A_{12}(k_{U_2}^V)^2 + \dots + A_{1m}(k_{U_m}^V)^2 = (g_{U_1}^V)^2, \\ & A_{21}(k_{U_1}^V)^2 + A_{22}(k_{U_2}^V)^2 + \dots + A_{2m}(k_{U_m}^V)^2 = (g_{U_2}^V)^2, \\ & \vdots \\ & A_{m1}(k_{U_1}^V)^2 + A_{m2}(k_{U_2}^V)^2 + \dots + A_{mm}(k_{U_m}^V)^2 = (g_{U_m}^V)^2, \end{aligned} \quad (8)$$

где величины $g_{U_i}^E$ и $g_{U_i}^V$ характеризуют степень непосредственного воздействия погрешностей исходных данных на параметр U_i и соответственно равны

$$(g_{U_i}^E)^2 = \frac{\sum_j \left(\phi_j \frac{\partial E_j}{\partial U_i} \right)^2}{\left[\sum_j \phi_j \left(\frac{\partial E_j}{\partial U_i} \right)^2 \right]^2} \sigma_E^2, \quad (g_{U_i}^V)^2 = \frac{\sum_j \left(\phi_j \frac{\partial E_j}{\partial U_i} \frac{\partial E_j}{\partial V} \right)^2}{\left[\sum_j \phi_j \left(\frac{\partial E_j}{\partial U_i} \right)^2 \right]^2} \sigma_V^2.$$

В случае $\phi_j=1$ ($j=1, 2, \dots, n$) значения k_i^E и k_i^V могут быть также найдены по эмпирической зависимости (6).

Можно ожидать, что в условиях, когда доминирующими погрешностями будут случайные погрешности измерения E и V и используемая модель титрования адекватна, все три метода будут давать согласующиеся между собой результаты.

Численный эксперимент и обработка данных. Кривые потенциометрического титрования сильной кислоты сильным основанием с заранее известными характеристиками получали по методу Монте-Карло.

Первоначально заданные номинальные объемы титранта суммировали с нормально распределенными погрешностями его дозирования ($\sigma_i=0.0001, 0.001, 0.01$ мл). Затем, для каждого полученного таким образом объема титранта рассчитывали соответствующее значение pH раствора и прибавляли к нему нормально распределенную погрешность измерения pH ($\sigma_{pH}=0.0001, 0.001, 0.01$ ед. pH). После этого восстанавливали исходные значения добавленного объема титранта. Основные расчеты проводили со следующими сгенерированными кривыми титрования:

1. **(10:1:10)** – $V=0.00, 0.30, 0.60, 0.90, 1.20, 1.50, 1.80, 2.10, 2.40, 2.45, 2.50, 2.55, 2.60, 2.80, 3.10, 3.40, 3.70, 4.00, 4.30, 4.60, 4.90$ мл;
2. **(20:1:20)** – $V=0.00, 0.15, 0.30, 0.45, 0.60, 0.75, 0.90, 1.05, 1.20, 1.35, 1.50, 1.65, 1.80, 1.95, 2.10, 2.20, 2.30, 2.35, 2.40, 2.45, 2.50, 2.55, 2.60, 2.65, 2.70, 2.80, 2.85, 2.95, 3.10, 3.25, 3.40, 3.55, 3.70, 3.85, 4.00, 4.15, 4.30, 4.45, 4.60, 4.75, 4.90$ мл;
3. **(50:1:50)** – $V=0.00, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.70, 0.75, 0.80, 0.85, 0.90, 0.95, 1.00, 1.05, 1.10, 1.15, 1.20, 1.25, 1.30, 1.35, 1.40, 1.45, 1.50, 1.55, 1.60, 1.65, 1.70, 1.75, 1.80, 1.85, 1.90, 1.95, 2.00, 2.05, 2.10, 2.15, 2.20, 2.25, 2.30, 2.35, 2.40, 2.45, 2.50, 2.55, 2.60, 2.65, 2.70, 2.75, 2.80, 2.85, 2.90, 2.95, 3.00, 3.05, 3.10, 3.15, 3.20, 3.25, 3.30, 3.35, 3.40, 3.40, 3.45, 3.50, 3.55, 3.60, 3.65, 3.70, 3.75, 3.80, 3.85, 3.90, 3.95, 4.00, 4.05, 4.10, 4.15, 4.20, 4.25, 4.30, 4.35, 4.40, 4.45, 4.50, 4.55, 4.60, 4.65, 4.70, 4.75, 4.80, 4.825, 4.85, 4.875, 4.90$ мл.

Концентрацию титруемой кислоты варьировали от 5×10^{-4} М до 5×10^{-3} М. Исходный объем титруемой смеси и объем точки эквивалентности во всех титрованиях были соответственно равны 50 мл и 2.5 мл; значение K_w принимали равным 10^{-14} .

Обработку сгенерированных кривых титрования проводили с помощью логарифмических зависимостей.

$$pH = L_1 = a_1 + b_1 \lg \left[\frac{c_t(V_e - V)}{V_0 + V} + x_1 \right] \text{ для } V < V_e \text{ и}$$

$$pH = L_2 = a_2 + b_2 \lg \left[\frac{c_t(V - V_e)}{V_0 + V} + x_2 \right] \text{ для } V \geq V_e,$$

где $a_1 = pH^0$; $a_2 = pH^0 + b_2 pK_w$; pH^0 – значение pH , соответствующее $[H^+] = 1$ М; b_1 – постоянные коэффициенты (в pH -метрическом титровании $|b_1| = |b_2| = 1$); V_0 – начальный объем титруемого раствора; V_e – объем титранта, соответствующий точке эквивалентности; c_t – концентрация титранта; x_i – поправки на обратимость реакции титрования.

Оценку параметров a_1 , a_2 и V_e получали минимизацией суммы квадратов отклонений (2) методами Пауэлла и Гаусса-Ньютона [5]. Оба метода давали практически совпадающие результаты.

Значение pK_w рассчитывали по формуле

$$pK_w = \frac{a_2 - a_1}{b_1}.$$

Более подробные сведения по обработке кривых кислотно-основного титрования с помощью логарифмических зависимостей и выражения для частных производных приведены в статьях [6, 7].

Оценки стандартных отклонений параметров кривой титрования находили тремя способами:

1. из 20 повторных титрований по формуле (1);
2. из суммы квадратов отклонений (3);
3. решением системы уравнений (5).

Дисперсию pK_w в двух последних случаях рассчитывали по формуле:

$$\sigma_{pK_w}^2 = \sigma_{\lg K}^2 = \frac{\sigma_{a_1}^2 + \sigma_{a_2}^2 - 2r_{a_1, a_2} \sigma_{a_1} \sigma_{a_2}}{b_1^2},$$

где r_{a_1, a_2} – коэффициент корреляции a_1 и a_2 .

В случае использования ПНЛР значения коэффициентов k_{ξ}^{pH} и k_{ξ}^I находили по эмпирической зависимости (6), а для 3-го способа, кроме того, решением систем уравнений (7), (8). В последнем случае значения $k_{pK_w}^I$ и $k_{pK_w}^V$ находили по формулам:

$$k_{pK_w}^I \approx \frac{(k_{a_1}^I)^2 + (k_{a_2}^I)^2 - 2r_{a_1, a_2} k_{a_1}^I k_{a_2}^I}{b_1^2}, \quad (9)$$

$$k_{pK_w}^V \approx \frac{(k_{a_1}^V)^2 + (k_{a_2}^V)^2 - 2r_{a_1, a_2} k_{a_1}^V k_{a_2}^V}{b_1^2}. \quad (10)$$

Было установлено, что максимальная погрешность в значениях $k_{pK_w}^I$ и $k_{pK_w}^V$ при расчете по формулам (9) и (10) не превышала 10 %.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СЛУЧАЙНЫХ ПОГРЕШНОСТЕЙ ПАРАМЕТРОВ

При обработке данных титрования ВНЛР значения коэффициентов k_i^{pH} и k_i^f находили только решением систем уравнений (7), (8) и по формулам (9), (10).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было установлено, что при обработке данных титрования ПНЛР результаты вычислений сильно зависят от того, содержат ли они точку $V \approx V_e$ или нет. Если кривая титрования содержит такую точку, то оценки дисперсии параметров, независимо от способа их получения, имеют крайне низкую стабильность (см. таблицу 1, титрование 20:1:20). Особенно сильно варьируют дисперсии, прогнозируемые по сумме квадратов отклонений и уравнениям (5) (исключение составляет последняя оценка $\sigma_{V_e}^2$, которая довольно стабильна). При этом значения коэффициентов k_i^{pH} (см. таблицу 2), вычисленные разными способами, неплохо согласуются между собой. Значения величин k_i^f , напротив, сильно зависят от способа расчета дисперсии параметров. Коэффициенты k_i^f , прогнозируемые по формулам (8), по сравнению с аналогичными коэффициентами, полученными по повторным титрованиям, явно завышены (исключение составляют величины $k_{V_e}^f$, которые неплохо согласуются между собой и практически равны 1). Значения k_i^f , найденные из суммы квадратов отклонений, заметно занижены, особенно $k_{V_e}^f$. В целом, воспроизводимость всех величин ухудшается с ростом концентрации кислоты и уменьшением отношения σ_{pH}/σ_V .

Таблица 1.
Отношение F максимальной и минимальной дисперсии параметров для
некоторых титрований ($\sigma_V=0.01$ мл, $\sigma_{pH}=0.01$ ед. pH, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М)

Параметр	ПНЛР			ВНЛР		
	Ур-ние 1 ^а	Ур-ние 2 ^б	Ур-ние 5 ^б	Ур-ние 1 ^а	Ур-ние 2 ^б	Ур-ние 5 ^б
Титрование 20:1:20						
pH^0	2.83	10.9	124	2.61	2.65	1.01
pK_w	3.14	10.6	53.5	2.20	2.61	1.34
V_e	2.36	360	1.53	1.69	2.65	1.00
Титрование 20:20						
pH^0	1.83	13.9	2.60	2.34	2.65	1.01
pK_w	2.08	15.9	2.03	2.68	2.68	1.37
V_e	1.46	9.20	1.65	1.56	2.65	1.00

а) найдены из 5 серий по 20 титрований, б) найдены из 20 титрований.

Таблица 2.
Значения коэффициентов k_U^{pH} и k_t^i для кривых титрования с точкой $V=V_e$ (ПНЛР)

Ур-ния	Коэф-ты	Параметры, U		
		pH^0	pK_w	V_e
Титрование 10:1:10, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М				
1	k_t^i	1.48(10)*	0.98(19)	0.812(96)
2	k_U^{pH}	0.392(93)	0.55(13)	0.00332(87)
	k_U^i	0.27(25)	0.38(34)	0.0005(82)
5	k_U^{pH}	0.317	0.448	0.00250
	k_U^V	26.7	42.0	1.00
Титрование 20:1:20, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М				
1	k_U^{pH}	0.206(25)	0.323(38)	0.0120(44)
	k_t^i	1.14(13)	0.771(71)	0.979(79)
2	k_U^{pH}	0.236(35)	0.334(49)	0.00287(53)
	k_U^V	0.488(63)	0.688(86)	0.0059(12)
5	k_U^{pH}	0.224	0.317	0.00249
	k_t^i	12.8	21.7	0.999
Титрование 20:1:20, $c_{HA}=5 \times 10^{-3}$ М				
1	k_U^{pH}	0.238(19)	0.266(29)	0.0043(42)
	k_t^i	1.22(10)	0.698(57)	0.773(67)
2	k_U^{pH}	0.265(42)	0.376(59)	0.00003(25)
	k_U^V	0.298(71)	0.424(81)	0.0011(11)
5	k_U^{pH}	0.224	0.316	0.000257
	k_t^i	95.9	202	1.00
Титрование 50:1:50, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М				
1	k_U^{pH}	0.095(16)	0.144(26)	0.0105(45)
	k_t^i	0.675(68)	0.369(53)	0.897(56)
2	k_U^{pH}	0.141(16)	0.201(23)	0.00216(52)
	k_U^V	0.260(25)	0.367(35)	0.0070(15)
5	k_U^{pH}	0.142	0.229	0.00244
	k_t^i	6.85	2.74	0.999

*В этой и следующей таблице в круглых скобках даны стандартные отклонения коэффициентов в последних значащих цифрах.

Таблица 3.

Значения коэффициентов $k_{t'}^{pH}$ и $k_{t'}^r$ после удаления из кривых титрования точки $V=V_e$ (ПНЛР)

Ур-ния	Кэф-ты	Параметры, U		
		pH^0	pK_w	V_e , мл
Титрование 10:10, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М				
1	$k_{t'}^{pH}$	0.438(43)	0.46(12)	0.118(21)
	$k_{t'}^r$	0.802(66)	0.61(22)	0.589(74)
2	$k_{t'}^{pH}$	0.356(94)	0.46(12)	0.088(23)
	$k_{t'}^r$	0.33(12)	0.43(17)	0.084(30)
5	$k_{t'}^{pH}$	0.344	0.488	0.083
	$k_{t'}^r$	1.38	1.97	0.592
Титрование 20:20, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М				
1	$k_{t'}^{pH}$	0.256(26)	0.321(35)	0.098(11)
	$k_{t'}^r$	0.596(47)	0.738(64)	0.592(39)
2	$k_{t'}^{pH}$	0.269(34)	0.346(43)	0.086(11)
	$k_{t'}^r$	0.452(43)	0.557(55)	0.113(14)
5	$k_{t'}^{pH}$	0.244	0.315	0.077
	$k_{t'}^r$	0.838	1.09	0.508
Титрование 20:20, $c_{HA}=5 \times 10^{-3}$ М				
1	$k_{t'}^{pH}$	0.250(36)	0.287(36)	0.093(13)
	$k_{t'}^r$	0.614(56)	0.633(68)	0.496(46)
2	$k_{t'}^{pH}$	0.261(41)	0.337(53)	0.084(13)
	$k_{t'}^r$	0.400(65)	0.516(84)	0.129(21)
5	$k_{t'}^{pH}$	0.247	0.315	0.074
	$k_{t'}^r$	0.992	1.28	0.546
50:50, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М				
1	$k_{t'}^{pH}$	0.137(13)	0.184(31)	0.062(13)
	$k_{t'}^r$	0.330(31)	0.421(39)	0.448(52)
2	$k_{t'}^{pH}$	0.160(17)	0.209(23)	0.077(10)
	$k_{t'}^r$	0.202(20)	0.287(27)	0.087(10)
5	$k_{t'}^{pH}$	0.152	0.215	0.073
	$k_{t'}^r$	0.424	0.600	0.463

Удаление из кривых титрования точки $V \approx V_e$, имеющей наихудшую воспроизводимость, повышает стабильность всех рассчитываемых величин и, в частности, дисперсии параметров (см. таблицу 1, титрование 20:20). При этом значения коэффициентов k_i^{pH} , вычисленные разными способами, несколько увеличиваются и по-прежнему неплохо согласуются между собой (см. таблицу 3). Коэффициенты k_e^i , согласно повторным титрованиям и уравнениям (8), заметно уменьшаются, а их значения, вычисленные из суммы квадратов отклонений, либо остаются почти без изменения (k_{pH}^i , k_{pKw}^i), либо увеличиваются ($k_{V_e}^i$). В целом, различия между коэффициентами k_i^i , рассчитанными разными способами, заметно снижаются и чем больше точек на кривой титрования, тем меньше эти различия. Эта тенденция к сближению значений коэффициентов k_i^i сохраняется и при удалении из области резкого изменения pH других точек.

На рис. 1 на примере исходной кривой 20:1:20 ($\sigma_V=0.001$ мл, $\sigma_{pH}=0.001$ ед. pH, $c_i=0.01$ М) показана зависимость среднеквадратичного отклонения pH^0 от относительной ширины "пустого" интервала $\Delta V_b/V_e$. Под "пустым" интервалом ΔV_b здесь подразумевается симметрично расположенная относительно конечной точки область кривой титрования, из которой были исключены точки. При построении этой и других подобных зависимостей стандартные отклонения, относящиеся к сумме квадратов отклонений, находили из усредненных по 20 титрованиям дисперсий. Как следует из этого рисунка, на зависимости s_{pH}^0 от $\Delta V_b/V_e$ существует довольно протяженный "пустой" интервал (примерно 0.16 – 0.24), где эта величина имеет минимальные значения и практически не зависит от способа ее оценивания. Рост s_{pH}^0 при дальнейшем увеличении $\Delta V_b/V_e$ связан, в основном, с сокращением числа точек на кривой титрования. Следует также отметить, что при $\Delta V_b/V_e \geq 0.52$ уравнения (8) дают несколько заниженные значения s_{pH}^0 . Аналогичная зависимость наблюдается и для s_{pKw} .

На зависимости s_{V_e} от $\Delta V_b/V_e$ (рис. 2) минимум наблюдается только у стандартных отклонений, рассчитываемых по повторным титрованиям и уравнениям (5). Оптимальная "пустая" область для них находится в пределах $\Delta V_b/V_e$ 0.08 – 0.12. Значения s_{V_e} , получаемые из суммы квадратов отклонений, с увеличением "пустой" области постоянно возрастают и до $\Delta V_b/V_e \approx 0.25$ явно занижены. Таким образом, использование этого метода при оценке неопределенности конечной точки титрования в общем случае может приводить к заниженным результатам.

Закономерности, описанные выше, характерны для всех изученных титрований. Ширина оптимального "пустого" интервала зависит, в основном, от σ_{pH}/σ_V : чем больше это отношение, тем он короче. Определенное значение имеют также число и расположение точек на кривой титрования.

Обработка исходных данных ВНЛР (т.е. с учетом погрешности дозирования объема титранта) характеризуется значительным улучшением воспроизводимости всех рассчитываемых величин, в том числе и дисперсий параметров (см. таблицу 1).

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СЛУЧАЙНЫХ ПОГРЕШНОСТЕЙ ПАРАМЕТРОВ

Их значения, полученные разными способами (см. таблицу 4), неплохо согласуются между собой.

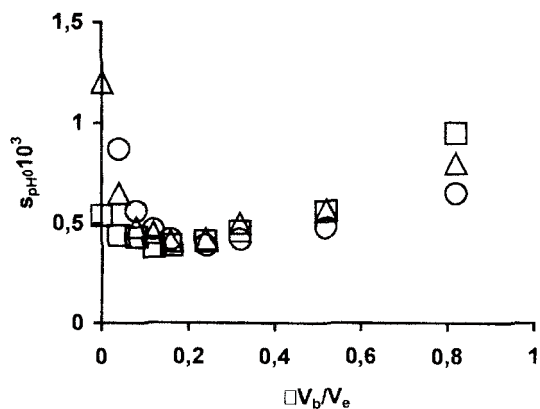


Рис.1. Зависимость s_{pH^0} от относительной ширины "пустого" интервала для исходной кривой 20:1:20 ($\sigma_V=0.001$ мл, $\sigma_{pH}=0.001$ ед. pH, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М, ПНЛР): Δ - из повторных титрований; \square - из суммы квадратов отклонений; \circ - по уравнению (5).

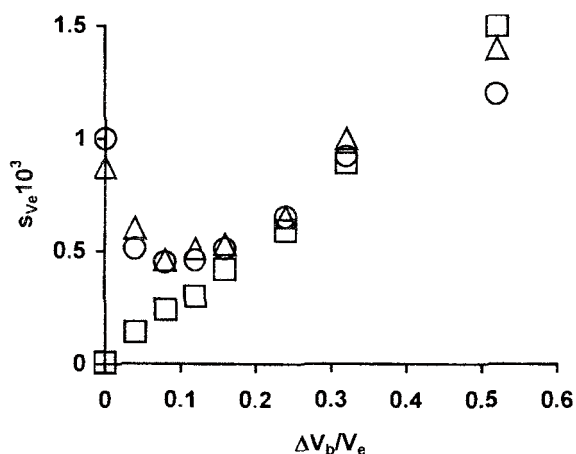


Рис. 2. Зависимость s_{V_e} от относительной ширины "пустого" интервала для исходной кривой 20:1:20 ($\sigma_V=0.001$ мл, $\sigma_{pH}=0.001$ ед. pH, $c_i=0.01$ М, ПНЛР): Δ - из повторных титрований; \square - из суммы квадратов отклонений; \circ - по уравнениям (5).

В отличие от ПНЛР в случае ВНЛР удаление точек из окрестности конечной точки не приводит к получению явно выраженного оптимального "пустого"

интервала для какого-либо параметра. На рис. 3 в качестве примера приведены зависимости s_{Ve} от относительной ширины "пустого" интервала для ВНЛР и ПНЛР (исходная кривая 20:1:20, $\sigma_V=0.001$ мл, $\sigma_{pH}=0.001$ ед. pH, $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М). Из него видно, что с ростом $\Delta V_b/V_e$ различия между значениями s_{Ve} , найденными ВНЛР и ПНЛР, постепенно исчезают. Данная закономерность характерна для стандартных отклонений других параметров и наблюдается во всех титрованиях. Значения s_U (если исключить значения s_{Ve} , полученные из суммы квадратов отклонений) при оптимальной ширине "пустого" интервала в ПНЛР значимо не отличаются от аналогичных значений в ВНЛР, что позволяет в ряде случаев вместо ВНЛР использовать ПНЛР.

Таблица 4.
Значения стандартных отклонений параметров для кривой титрования 20:1:20,
 $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М (ВНЛР)

σ_V	σ_{pH}	$s_{pH} \times 10^3$	$s_{pK_n} \times 10^3$	$s_{Ve} \times 10^3$
По повторным титрованиям				
0,0001	0,0001	0.0039	0.0043	0.0036
	0,001	0.023	0.030	0.0092
	0,01	0.19	0.35	0.015
0,001	0,0001	0.0067	0.011	0.021
	0,001	0.032	0.046	0.042
	0,01	0.31	0.37	0.078
0,01	0,0001	0.036	0.059	0.18
	0,001	0.11	0.16	0.26
	0,01	0.22	0.40	0.28
По сумме квадратов отклонений				
0,0001	0,0001	0.0047	0.0059	0.0051
	0,001	0.028	0.037	0.008
	0,01	0.25	0.35	0.011
0,001	0,0001	0.011	0.012	0.031
	0,001	0.039	0.049	0.043
	0,01	0.23	0.31	0.068
0,01	0,0001	0.039	0.066	0.22
	0,001	0.095	0.11	0.28
	0,01	0.32	0.39	0.35
Решением системы уравнений (5)				
0,0001	0,0001	0.0031	0.0038	0.0032
	0,001	0.024	0.032	0.0069
	0,01	0.22	0.32	0.010
0,001	0,0001	0.0085	0.0097	0.023
	0,001	0.031	0.038	0.032
	0,01	0.24	0.32	0.069
0,01	0,0001	0.034	0.069	0.19
	0,001	0.085	0.097	0.23
	0,01	0.31	0.38	0.32

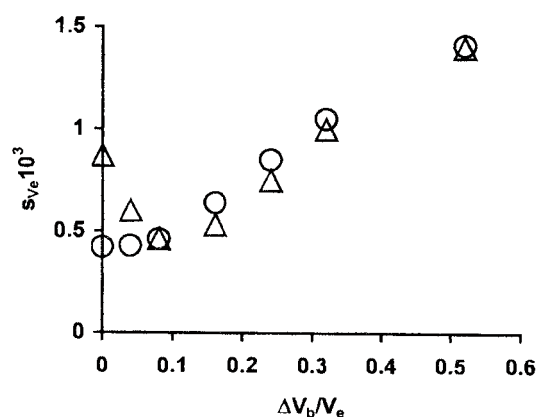


Рис. 3. Зависимость s_{f_e} от относительной ширины "пустого" интервала для исходной кривой 20:1:20 ($\sigma_V=0.001$ мл, $\sigma_{pH}=0.001$ ед. pH , $c_{HA}=5 \times 10^{-4}$ М): \circ – ВНЛР; Δ – ПНЛР.

ВЫВОДЫ

Установлено, что предлагаемый метод можно использовать для прогнозирования воспроизводимости параметров кривой титрования. его достоинством является возможность оптимизации условий титриметрического эксперимента при отсутствии повторных титрований

Список литературы

1. Кропотов В.А. Прогнозирование случайных погрешностей параметров кривой потенциметрического титрования: теоретический аспект // Ученые записки Таврического национального университета. – 2006. – Т. 19 (58). № 2. – С. 104-110.
2. Бард Й. Нелинейное оценивание параметров. – М.: Мир, 1979. – 349 с.
3. Бородин В.А., Васильев В.П., Козловский Е.В. Пакет универсальных программ для обработки экспериментальных данных при изучении сложных равновесий в растворах. – В кн.: Математические задачи химической термодинамики. – М.: Новосибирск. Наука. 1985. – С. 219-226.
4. De Stefano C., Princi P., Rigano C., Sammartano S. Computer analysis of equilibrium data in solution. ESAB2M: an improved version of the ESAB program // Ann. Chim. Rome. – 1987. – V. 77. – P. 643.
5. Химмельблау Д. Прикладное нелинейное программирование. – М.: Мир, 1975. – 534 с.
6. Кропотов В.А. Аппроксимация кривых кислотно-основного титрования логарифмическими зависимостями // Журн. аналит. химии. – 1998. – Т.53. № 7. – С. 725-728.
7. Кропотов В.А. Аппроксимация кривых потенциметрического титрования логарифмическими зависимостями. Факторы, влияющие на точность кислотно-основного титрования // Журн. аналит. химии. – 1999. – Т.54. № 2. – С. 148-152.

Кропотов В.А. Прогнозування випадкових похибок параметрів кривої потенціометричного титрування: титрування сильної кислоти // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 108-120.

Метод, запропонований автором для прогнозування невизначеностей параметрів кривої потенціометричного титрування, порівнюється із двома звичайними методами, такими як повторні титрування та сума квадратів відхилення. Як показано у випадку титрування сильної кислоти, цей метод має значні переваги при плануванні оптимального експерименту.

Ключові слова: Потенціометричне титрування, прогнозування похибок, титрування сильної кислоти

Kropotov V. A. Prediction of random errors of a potentiometric titration curve parameters: strong acid titration // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 108-120.

The method proposed by author for prediction of parameter uncertainties of potentiometric titration curve is compared to two conventional approaches, such as rotation titration and the sum-of-squared residuals. As it is demonstrated in case of strong acid titration, the method has significant advantages for designing an optimal experiment.

Keywords: Potentiometric titration, error prediction, strong acid titration

Поступило в редакцію 30.05.2007 г.

УДК. 544.723:546.63:549.67

СОРБЦИЯ СКАНДИЯ (III) ЦЕОЛИТАМИ

Крымова В. В., Аджигафарова Н. С., Федоренко А. М.

Исследована сорбция скандия (III) из растворов на Na^+ - и NH_4^+ - формах цеолита (клиноптилолит) и биоминеральном сорбенте (БМС). Получены физико-химические характеристики процессов сорбции ионов Sc^{3+} . Установлено, что исследованные сорбенты являются эффективными и их можно использовать для извлечения и концентрирования скандия из комплексного сырья.

Ключевые слова: цеолиты, БМС- биоминеральный сорбент, скандий, адсорбция.

ВВЕДЕНИЕ

Запросы наукоемких отраслей промышленности таких, как атомная энергетика, получение и концентрирование цветных и благородных металлов, потребовали создания новых типов ионообменных веществ, обладающих высокой селективностью к ионам различных металлов.

Интерес к цеолитам обусловлен тем, что эти природные минералы доступны и дешевы, обладают специфичными ионообменными и адсорбционными свойствами [1]. Возможность модифицирования цеолитов позволяет получить на их основе сорбенты с заданными свойствами, например, пригодные для разделения элементов и выделения их следовых количеств.

Цель данной работы заключалась в исследовании сорбционных свойств модифицированных форм природного цеолита – клиноптилолита для концентрирования редкоземельного элемента скандия.

Скандий относится к редким рассеянным элементам, практически не имеет собственных руд и извлекается из комплексного сырья. В настоящее время проблема извлечения скандия из комплексного сырья и технологических отходов, а также получение чистых соединений на его основе остается актуальной [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовался клиноптилолит (месторождение – Закарпатье, г. Хруст), состав элементарной ячейки $\text{Na}_6[(\text{AlO}_2)_6(\text{SiO}_2)_{30}]\cdot 24\text{H}_2\text{O}$, отношение $\text{Si}/\text{Al} = 4,25-5,25$, содержащий катионы K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} . Минерал предварительно очищали по специальной методике [3] и получали H^+ - форму. Катионные формы цеолита Na^+ - и NH_4^+ - получали обработкой H^+ - формы 1 М растворами NaCl и NH_4Cl . Наряду с катионными формами цеолита исследовался биоминеральный сорбент (БМС), полученный нанесением на поверхность клиноптилолита биомассы

микроорганизмов (0,2 %) и связующего [4]. Гранулы БМС (1-2 мм) устойчивы к кислой среде (рН – 3,0) и термообработке до 150 °С.

Для исследований использовали раствор нитрата скандия, концентрацию которого определяли при помощи унифицированного метода комплексонометрического определения скандия с помощью ЭДТА [5]. Из этого раствора были приготовлены водные растворы нитрата скандия в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-2}$ – $10,8 \cdot 10^{-2}$ мг/мл.

Адсорбцию ионов Sc^{+3} из растворов на цеолите проводили в статическом режиме при комнатной температуре, постоянном количестве сорбента (0,5 г) с размером зерен 0,5-1 мм.

Количественное определение ионов скандия в растворах при проведении сорбции осуществляли оптическим методом с применением ксиленолового оранжевого на ФЭК КФК-3, используя калибровочный график [6].

Величину адсорбции (Γ) рассчитывали по формуле:

$$\Gamma = [(C_0 - C_p) / m] \cdot V \text{ [мг/мл]},$$

где C_0 – исходная концентрация ионов Sc^{+3} , мг/мл; C_p – равновесная концентрация ионов Sc^{+3} , мг/мл; m – количество адсорбента, г; V – начальный объем, мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изотермы сорбции ионов Sc^{+3} на Na^+ - и NH_4^+ - формах клиноптилолита и БМС в зависимости от концентрации исходных растворов приведены на рис. 1. Как видно из рис. 1, изотермы сорбции скандия соответствуют изотермам Лэнгмюра. Взаимное расположение кривых показывает, что NH_4^+ - форма клиноптилолита активнее Na^+ - формы, а величина предельной адсорбции скандия на БМС превышает в 1,7-2,2 раза величину адсорбции на катионных формах.

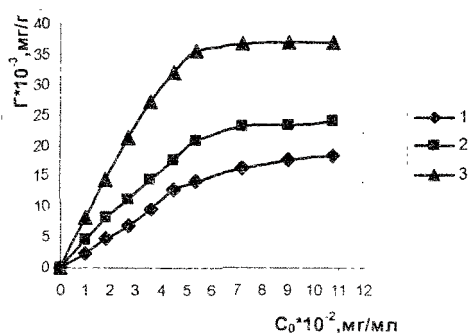


Рис.1 Зависимость величины адсорбции ионов Sc^{+3} на различных сорбентах от концентрации исходных растворов нитрата скандия (60 мин)

1 - Na^+ - форма; 2 - NH_4^+ - форма; 3 - БМС.

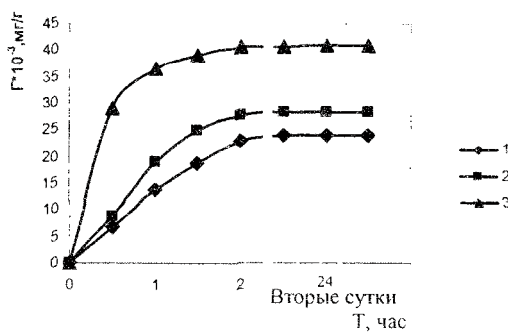


Рис.2 Зависимость величины адсорбции ионов Sc^{+3} на различных сорбентах от времени контактирования их с раствором нитрата скандия ($C_{Sc^{+3}} = 5,4 \cdot 10^{-2}$ мг/мл)

1 - Na^+ - форма; 2 - NH_4^+ - форма; 3 - БМС.

Представляло интерес исследование кинетики сорбционных процессов для выяснения оптимального времени сорбции скандия. На рис. 2 представлены

СОРЕБЦИЯ СКАНДИЯ (III) ЦЕОЛИТАМИ

графические зависимости величины сорбции ионов Sc^{+3} в зависимости от времени контактирования сорбентов с растворами ($C_{Sc^{+3}} = 5,4 \cdot 10^{-2}$ мг/мл). Как видно из рис. 2, на Na^{+} - и NH_4^{+} -формах клиноптилолита величина адсорбции достигает максимального значения через 23-24 часа (на вторые сутки), в то время как насыщение БМС достигается в течение двух часов.

С целью изучения обратимости связывания ионов Sc^{+3} сорбентами был исследован процесс десорбции ионов Sc^{+3} в различных средах: нейтральной, кислой (HCl) и щелочной (NaOH). Экспериментально найдено, что десорбция ионов Sc^{+3} с катионных форм цеолита осуществляется в кислой (pH = 4,5) и в щелочной (pH = 8,5) средах. Десорбции ионов Sc^{+3} с БМС независимо от pH среды не обнаружено, что указывает на хемосорбцию ионов Sc^{+3} на поверхности БМС и необратимость процесса.

Для сравнения адсорбционных свойств изучаемых сорбентов по отношению к иону Sc^{+3} были определены следующие физико-химические характеристики исследуемых цеолитов: время установления равновесия, сорбционная емкость (СЕ) и степень извлечения (α) [7]. Результаты представлены в табл. 1

Таблица 1.
Физико-химические характеристики адсорбции ионов Sc^{+3} на Na^{+} - и NH_4^{+} -формах клиноптилолита и БМС

Форма цеолита	$C_0 \cdot 10^{-2}$, мг/мл	Время установления равновесия, час	СЕ $\cdot 10^{-3}$, мг/г	α_1 , %	α_2 , %
Na^{+} -	1	23-24	7,3	73,0	20,4
	1,8		11,6	58,0	
	2,7		14,5	49,8	
	3,6		17,1	42,3	
	5,4		22,2	36,6	
	7,2		26,3	32,8	
	10,8		28,3	28,0	
NH_4^{+} -	1	23-24	9,5	90,0	26,6
	1,8		15,5	77,5	
	2,7		18,5	68,3	
	3,6		21,3	53,2	
	5,4		26,3	43,8	
	7,2		32,0	40,0	
	10,8		33,9	34,0	
БМС	1	2	11,3	99,8	38,9
	1,8		18,5	92,5	
	2,7		26,6	85,0	
	3,6		30,0	75,0	
	5,4		38,0	63,3	
	7,2		41,0	52,2	
	10,8		42,0	42,2	

α_1 - степень извлечения из чистых растворов скандия, α_2 - степень извлечения из смешанных растворов

Как видно из табл. 1, время достижения ионообменного равновесия на катионных формах цеолита (24 часа) значительно превышает время насыщения (2 часа) биоминерального сорбента ионами Sc^{+3} . Сорбционная емкость (СЕ) цеолитов увеличивается с увеличением концентрации ионов Sc^{+3} и достигает постоянного значения, что коррелирует с лэнгмюровским характером изотерм адсорбции (рис. 1). При этом сорбционная емкость БМС в 2 раза превышает СЕ Na^+ - и NH_4^+ - форм клиноптилолита. Степень извлечения (α_1) имеет максимальное значение при небольших концентрациях исходных растворов Sc^{+3} и уменьшается с увеличением концентрации растворов. Следует отметить, что степень извлечения (α_1) Sc^{+3} на БМС на 20-30 % выше, чем на катионных формах цеолита.

Важной характеристикой сорбентов является избирательность по отношению к извлекаемому иону. Для определения этой величины к исходному раствору с $C_{Sc^{+3}} = 7,2 \cdot 10^{-2}$ мг/мл были добавлены растворы, содержащие разнозарядные ионы Al^{+3} , K^+ , Si^{2+} и проведена сорбция ионов Sc^{+3} из смешанных растворов. Как видно из табл. 1, степень извлечения (α_2) скандия из смешанных растворов на 12-15 % ниже степени извлечения (α_1) Sc^{+3} из чистых растворов, что указывает на конкурирующую сорбционную активность посторонних ионов.

Анализ полученных результатов показывает, что адсорбционные и ионообменные процессы по отношению к ионам Sc^{+3} на модифицированных формах цеолита протекают неодинаково. Катионные формы клиноптилолита уступают по сорбционной активности БМС.

Известно [8], что природа обменных катионов в цеолите существенно влияет на их ионообменные свойства вследствие различной локализации и плотности расположения этих катионов внутри цеолита. Как показывают результаты исследования, NH_4^+ - форма клиноптилолита обладает большей сорбционной активностью по сравнению с Na^+ - формой по отношению к Sc^{+3} .

Однако БМС по своим характеристикам (сорбционная емкость, степень извлечения, селективность) значительно превосходит катионные формы клиноптилолита, что убедительно показано в работе. Это объясняется составом данного сорбента, состоящего из клиноптилолита и нанесенной на него активной фазы (микроорганизмы и продукты их метаболита). Предположительно, активная фаза содержит $-COOH$ и $-OH$ группы, с которыми ионы Sc^{+3} образуют устойчивые соединения, что свидетельствует о хемосорбции ионов Sc^{+3} и необратимости сорбционного процесса на БМС [9].

ВЫВОДЫ

Полученные в работе данные показывают, что модифицирование клиноптилолита позволяет получить сорбенты с улучшенными характеристиками. Na^+ - и NH_4^+ -формы клиноптилолита, а также БМС являются эффективными сорбентами скандия(III) и их можно использовать для извлечения и концентрирования ионов Sc^{+3} из растворов.

СОРБЦИЯ СКАНДИЯ (III) ЦЕОЛИТАМИ

Список литературы

1. Челищев Н. Ф. Ионнообменные свойствами минералов. – М.: Наука, 1973. – С. 186 – 191.
2. Химия и технология редких и рассеянных элементов. // Под ред. К. А. Большакова. Учебное пособие для вузов. Изд. 2-е. М.: Высшая школа, 1976. – С. 3 – 45.
3. Полянский Н.Г., Горбунов Н.О., Полянская А.И. Методы исследования ионитов. – М.: Химия, 1976.- С. 10 – 25.
4. Патент Украины № 94012866 от 28.01.94. Сорбент для очистки воды. / Эстрела – Льопис В.Р., Юркова И.Н., Головки Ю.С. и др. Опубл. 30.09.96 г.
5. Комиссарова Л.Н. Неорганическая и аналитическая химия скандия. – М.: Эдиториал УРСС, 2001 – С. 300 – 340.
6. Бусев А.И., Типцова В.Г., Иванов В.Н. Руководство по аналитической химии редких и рассеянных элементов. – М.: Химия, 1978. – С. 83 – 86.
7. Гриссбах Р. Теория и практика ионного обмена. – М.: Изд. иностр. лит., Наука, 1970. – С. 238 – 250.
8. Брек Д. Цеолитовые молекулярные сита. – М.: Мир, 1976. – 781 с.
9. Крымова В.В., Юркова И.Н. Адсорбционные свойства биоминерального сорбента.// Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия» – 2005. – Т 18 (58), № 2. – С. 62 – 64.

Крымова В. В., Аджигарова Н. С., Федоренко О. М. Сорбция скандия(III) цеолитами // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского . Серия „Биология, химия”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 121-125.

Досліджено сорбцію скандія (III) з розчинів на Na^+ - і NH_4^+ - формах цеоліту (клинотиліт) та біомінерального сорбенту (БМС). Визначено фізико-хімічні характеристики процесів сорбції іонів Sc^{+3} . Встановлено, що сорбенти, які досліджувались, є ефективними, та можливо їх використовувати для вилучення і концентрування скандію з комплексної сировини.

Ключові слова: цеоліти, БМС- біомінеральний сорбент, скандій, адсорбція.

Krymova V. V., Adjigafarova N. S., Fedorenko O. M. Scandium(III) sorption by zeolites // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 121-125.

Scandium (III) sorption from solutions on Na^+ - and NH_4^+ - forms of zeolites (clinoptilolite) and biomineral sorbent (BMS) has been investigated. The physicochemical characteristics of Sc^{+3} ions sorption processes were obtained. The researched sorbents were found effective and they may be used for extraction and concentration the Sc^{+3} ions from raw materials.

Keywords: zeolites, BMS- biomineral sorbent, scandium, adsorption.

Поступила в редакцию 05.06.2007 г.

УДК 577.152.34

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КИНЕТИКИ ГИДРОЛИЗА КАЗЕИНА ПАПАИНОМ, ТРИПСИНОМ И ЩЕЛОЧНОЙ ПРОТЕАЗОЙ ИЗ *BACILLUS SUBTILIS*

Романовская И.И., Декина С.С., Севастьянов О.В.

Изучена кинетика начальных скоростей гидролиза казеина папаином, трипсином и щелочной протеазой из *Bacillus subtilis*. Определены термодинамические и кинетические параметры реакции. Показано, что в диапазоне концентраций субстрата, превышающих 4,6; 3,1; 1,8 г/дм³ для папаина, трипсина и щелочной протеазы, соответственно, наблюдается ингибирование протеолитической активности ферментов, что значительно снижает скорость реакции гидролиза. Учитывая данный эффект рекомендовано использование 0,5 – 0,75 % растворов казеина, при которых субстратное ингибирование не будет играть существенной роли.

Ключевые слова: папаин, трипсин, щелочная протеаза, кинетика, субстратное ингибирование, модификация.

ВВЕДЕНИЕ

Протеолитические ферменты являются классическим объектом биохимии, химии белка и энзимологии, играют ключевую роль в белковом обмене живых организмов, в образовании и распаде биологически активных веществ, таких как гормоны, токсины, нейропептиды. Многие регуляторные механизмы основаны на ограниченном высокоспецифичном протеолизе. Несмотря на большой объем знаний, накопленных в данной области, характеристика и выяснение особенностей функционирования протеаз является актуальной задачей. Для достижения необходимого эффекта в биотехнологическом процессе при использовании ферментных препаратов очень важно выбрать их правильную дозировку. Оценка качества ферментных препаратов и точность метода определения их активности имеют огромное значение для биотехнологии.

Ранее в наших работах по иммобилизации протеолитических ферментов различного происхождения и изучению физико-химических особенностей их функционирования [1-3], мы столкнулись с существенно искажающим их истинную активность субстратным ингибированием. Использование наиболее распространенных методов определения протеолитической активности по казеину [4] не позволяло достоверно определять истинную активность препаратов. В связи с недостаточностью освещения данной проблемы в литературе, целью работы явилось подробное изучение кинетики гидролиза казеина папаином, трипсином и щелочной протеазой *Bacillus subtilis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали папаин (К.Ф. 3.4.22.2) из *Carica papaya* с активностью 320 ед/г (Merck), трипсин (К.Ф. 3.4.23.1) с активностью 210 ед/г (Merck), внутриклеточную щелочную сериновую протеиназу *Bacillus subtilis* (К.Ф. 3.4.21.14), штамм 72 (АО «Энзим», Украина), с протеолитической активностью 65 ед/г, казеин по Гаммерстейну (ОАО «Диаэм», Россия).

Активность протеаз определяли методом Ансона [4], принимая за единицу протеолитической активности такое количество фермента, которое за 1 мин при 37 С катализирует расщепление казеина до продуктов, не осаждаемых трихлоруксусной кислотой, содержание которых выражено в микромолях тирозина. Содержание белка контролировали методом Лоури-Хартри [5].

Кинетику гидролиза папаином, трипсином и щелочной протеазой определяли по начальным скоростям гидролиза казеина [6, 7]. На основе полученных данных строили график в координатах Хейнса $S/V=f([S])$. Методом наименьших квадратов определяли tg угла наклона, численно равный $1/V_{max}$, а точка пересечения экстраполированной прямой с осью ординат соответствует K_m/V_{max} ; точка пересечения с осью абсцисс – K_m .

Ингибирование ферментов анализировали, определяя константы ингибирования методом Диксона, строя графическую зависимость $1/V=f([S])$. Точка пересечения прямой с осью абсцисс – отрицательное значение константы субстратного ингибирования ($-K_{is}$), а точка пересечения с осью ординат – обратное значение максимальной скорости ($1/V_{max}$) [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение кинетики гидролиза казеина по начальным скоростям реакции для всех ферментов показало, что для протеаз характерна параболическая форма кривой зависимости наблюдаемой скорости реакции от концентрации субстрата (рис. 1). Скорость реакции по мере повышения концентрации субстрата сначала возрастала, а, достигнув максимума, начинала снижаться.

Полученные данные проанализированы методами линеаризации уравнения Михаэлиса-Ментен по Хейнсу (рис. 2).

Согласно проведенным кинетическим исследованиям установлено, что для папаина кажущиеся значения K_m и V_{max} , составляли 1,72 г/дм³ и 730,6 мкмоль/г/мин, соответственно. Для трипсина K_m и V_{max} , соответственно, 0,75 г/дм³ и 625,0 мкмоль/г/мин. Для щелочной протеазы K_m и V_{max} , соответственно, составляли 0,57 г/дм³ и 193,1 мкмоль/г/мин.

Наибольший интерес представляет наблюдаемое субстратное ингибирование реакции, поскольку характер данного процесса оказывает существенное влияние на определяемую активность ферментов. При добавлении субстрата выше определенной концентрации скорость катализируемой реакции далее не увеличивалась и не оставалась постоянной при концентрациях выше насыщающей, а понижалась, т.е. развивалось ингибирование. Эффект ингибирования вероятнее всего связан с локальным увеличением концентрации казеина в микроокружении фермента.

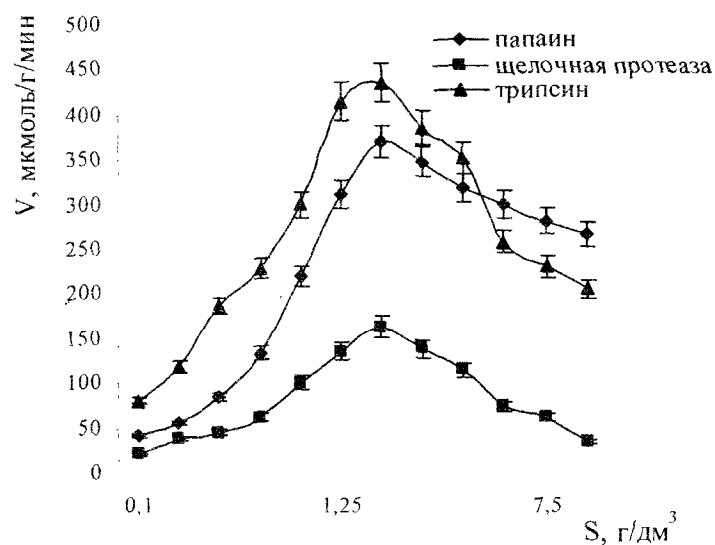


Рис. 1. Зависимость скорости реакции гидролиза казеина папаином, щелочной протеазой, трипсином от концентрации субстрата.

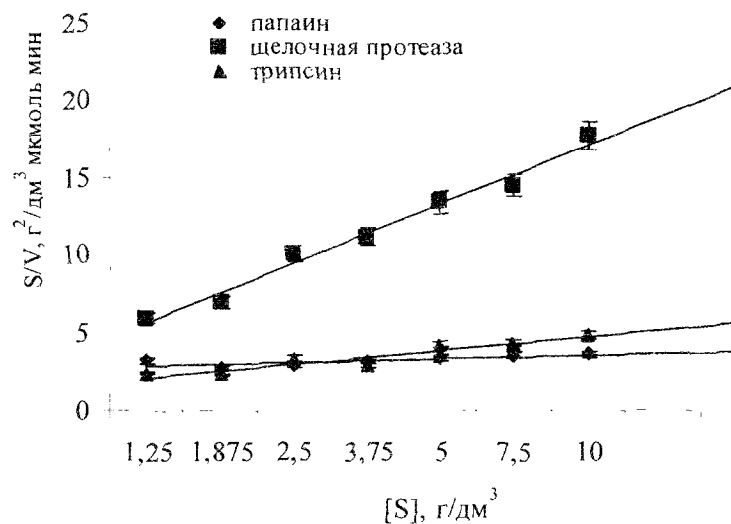


Рис. 2. Зависимость отношения концентрации субстрата к наблюдаемой скорости реакции гидролиза казеина от концентрации субстрата для папаина, щелочной протеазы и трипсина.

Анализ нисходящей части параболической зависимости наблюдаемой скорости реакции от концентрации субстрата методом Диксона (рис. 3) позволил вычислить

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КИНЕТИКИ ГИДРОЛИЗА КАЗЕИНА

кажущиеся константы ингибирования протеаз, оптимальные концентрации субстрата.

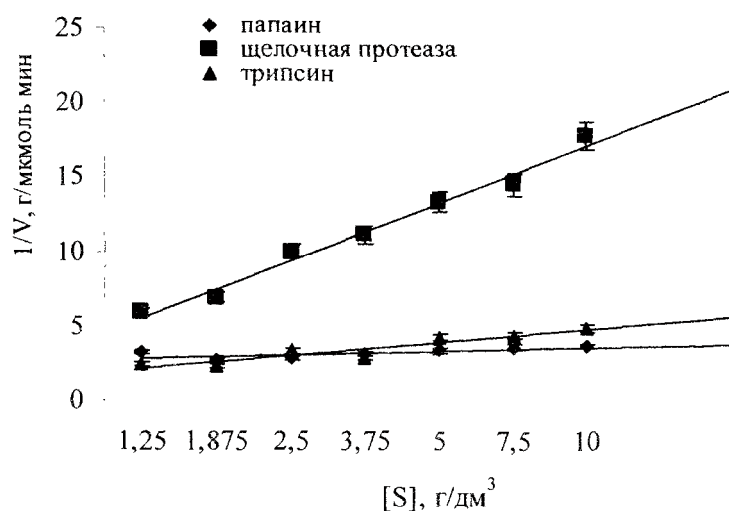


Рис. 3. Зависимость обратной скорости реакции гидролиза казеина от концентрации субстрата для папаина, щелочной протеазы и трипсина.

Для папаина, трипсина и щелочной протеазы константы ингибирования составили, соответственно, 12,5; 12,5; 5,9 г/дм³. Оптимальные концентрации субстрата 4,6; 3,1; 1,8 г/дм³, что соответствует использованию 0,5 – 0,75 % раствора казеина в методике определения протеолитической активности.

ВЫВОД

В результате проведенных исследований установлено что, для более точного определения протеолитической активности изученных протеаз рекомендовано использование меньших концентраций казеина, при которых субстратное ингибирование не будет играть существенной роли.

Список литературы

1. Романовська І.І., Декіна С.С. Розробка раневого гідрогелевого покриття з іммобілізованою лужною протеазою *B. subtilis* на основі модифікованого полі-N-вінілпіролідону // Досягнення біології та медицини. - 2007. - № 1. – С. 88 - 91.
2. Романовська І.І., Декіна С.С. Іммобілізація папаїну та сечовини в полівініловий спирт // Медична хімія. - 2007 - №1. – С. 35 – 40.
3. Dekina S., Romanovskaya I., Sevastyanov O. Investigation of casein hydrolysis kinetics by papain, trypsin and *Bacillus subtilis* alkaline protease // Materials of III International Young Scientists conference "Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution", Odessa, 15 – 18 May 2007.: Тез. докл./ Одесса. - С. 182
4. Польшалина Г.В., Чередниченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов – М.: ДеЛи принт, 2003. – С. 230 - 231.

5. Hartzee E.E. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometry response // *Anal. Biochemistry*. – 1972 - V. 48 - №1 - P. 422-427.
6. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. М.: Мир, 1980. – 393 с.
7. Березин И. В., Клесов А. А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. - М.: МГУ, 1976. - 320 с.

*Романовська І.І., Декіна С.С., Севастьянов О.В. Деякі особливості кінетики гідролізу казеїну папаїном, трипсином та лужною протеазою з *Bacillus subtilis* // // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського . Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 126-130.*

Досліджено кінетику початкових швидкостей гідролізу казеїну папаїном, трипсином і лужною протеазою з *Bacillus subtilis*. Визначені термодинамічні і кінетичні параметри реакції. Показано, що в діапазоні концентрацій субстрату, що перевищують 4,6; 3,1; 1,8 г/дм³ для папаїну, трипсину і лужної протеази, відповідно, спостерігається інгібування протеолітичної активності ферментів, що значно знижує швидкість реакції гідролізу. Враховуючи даний ефект, рекомендовано використання 0,5 – 0,75 % розчинів казеїну, за яких субстратне інгібування не буде мати суттєвої ролі.

Ключові слова: папаїн, трипсин, лужна протеаза, кінетика, субстратне інгібування, модифікація.

*Romanovskaya I.I., Dekina S.S., Sevastyanov O.V. Some features of casein hydrolysis kinetics by papain, trypsin and alkaline protease from *B. subtilis* // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 126-130*

The kinetic of initial rates of casein hydrolysis kinetics by papain, trypsin and alkaline protease from *Bacillus subtilis* was studied. The thermodynamic and kinetic parameters of the reaction were determined. In the range of substrate concentrations, exceeding 4.6; 3.1 and 1.8 g/dm³ for papain, trypsin and alkaline protease, respectively, the substrate inhibition of proteolytic activity of the enzymes mentioned occurs, which substantially decreases the rate of hydrolysis reactions, as it was shown. Taking this effect in consideration, it is recommended the usage of 0.5 – 0.75 % casein solutions, at which the substrate inhibition would not play the significant role.

Keywords: papain, trypsin, alkaline protease, kinetic, substrate inhibition, modification.

Поступила в редакцію 05.10.2007 г.

УДК 539.196+543.422

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИМЕРИЗАЦИИ ФЕНИЛАНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ ПО ИК СПЕКТРАМ ПОГЛОЩЕНИЯ

Шейх-Заде М.И.

Получены инфракрасные спектры растворов фенилантраниловой кислоты в C_2Cl_4 в области валентных колебаний ОН-группы в интервале температур 25–100 °С. Получены значения константы димеризации K_d при различных температурах. Из температурной зависимости K_d найдены значения $-\Delta H$ и $-\Delta S$ димеризации этой кислоты. Сделан вывод о том, что уменьшение электронодонорной способности карбонильной группы компенсируется увеличением протонодонорной способности гидроксильной группы.

Ключевые слова: инфракрасные спектры, фенилантраниловая кислота, константа димеризации, энтальпия.

ВВЕДЕНИЕ

Исследованию спектроскопических и термодинамических характеристик димеризации карбоновых кислот посвящен ряд работ, например [1 – 7]. В этих работах определение термодинамических характеристик димеризации алифатических и ароматических карбоновых кислот проводилось различными методами и по различным методикам. При этом в ряде случаев результаты значительно различаются между собой даже для одной и той же кислоты. Например, по данным [2 – 5] энергия образования димеров трифторуксусной кислоты в газовой фазе равна 13,4; 13,85; 17,5; 12,0 ккал/моль соответственно.

Задачей данной работы являлось измерение константы димеризации K_d , изменения энтальпии ΔH и энтропии ΔS при димеризации фенилантраниловой кислоты (ФАК) в растворе в C_2Cl_4 с целью выяснения влияния внутримолекулярной водородной связи (ВВС) и электронных эффектов заместителя в бензольном кольце на термодинамические характеристики димеризации ФАК. Величину $-\Delta H$ можно с хорошим приближением считать равной энергии димеризации. Измерения K_d , ΔH , ΔS проводилось по методике, использованной в работах [6, 8] при исследовании димеризации некоторых ароматических карбоновых кислот. Использование единой методики измерений позволяет повысить точность сравнительной характеристики термодинамических параметров исследуемых соединений.

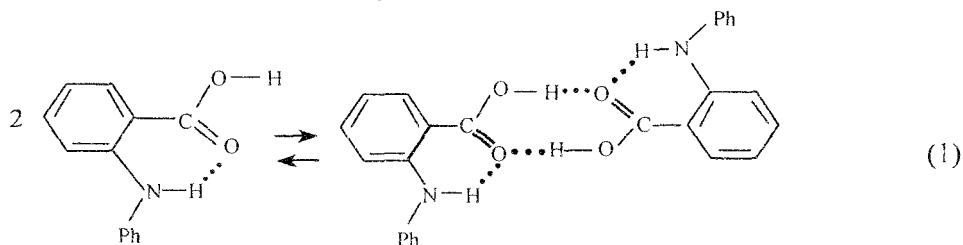
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ИК спектры растворов ФАК в C_2Cl_4 регистрировалось на приборе Specord 75 IR. Условия регистрации выбирались такими, чтобы свести к минимуму

искажающее влияние прибора на спектры. При регистрации спектров использовались термостатируемые кюветы с окнами из CaF_2 . Температура измерялась медь – константановой термопарой с точностью $0,5^\circ\text{C}$. При обработке результатов вводилась поправка на зависимость плотности раствора от температуры. Измерения проводились в интервале концентраций ФАК $4,6 \cdot 10^{-4} - 1,3 \cdot 10^{-2}$ моль/л и температур $25-100^\circ\text{C}$. Толщина слоя раствора выбиралась такой, чтобы свести к минимуму погрешность в определении оптической плотности в максимуме аналитической полосы. Растворитель C_2Cl_4 осушался с помощью цеолита марки NaA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе [9] на основе анализа значений частот полос $\nu\text{C}=\text{O}$, $\nu\text{N}-\text{H}$, νOH и концентрационной и температурной зависимостей интенсивностей этих полос показано, что в указанных выше интервалах температур и концентраций как мономеры, так и циклические димеры ФАК находятся в конформации с ВВС, в которой одна из неподеленных электронных пар атома кислорода карбонильной группы образует ВВС с аминогруппой, а вторая – или остается свободной (мономеры), или участвует в межмолекулярной водородной связи (димеры). Показано [9], что в выбранных экспериментальных условиях реализуется равновесие между мономерами и димерами ФАК:



Константу равновесия реакции (1) (т.е. константу димеризации K_d) можно определить по формуле

$$K_d = C_d / (C^a)^2 = (C_0^a - C^a) / (C^a)^2, \quad (2)$$

где C_0^a – исходная концентрация кислоты, C^a , C_d – концентрация мономеров и димеров ФАК соответственно. Как видно из формулы (2), для нахождения K_d достаточно измерить значение C^a . Значение C^a определялись по полосе $\nu_{\text{OH}}=3541 \text{ см}^{-1}$ мономеров ФАК [9], которая является удобной для аналитических целей. Измерения в интервале температур $25-100^\circ\text{C}$ показали, что полуширина этой полосы равна 33 см^{-1} и не зависит от температуры. Поэтому измерение C^a можно проводить по оптической плотности D в максимуме полосы ν_{OH} :

$$C^a = D / \varepsilon \cdot d, \quad (3)$$

где ε – коэффициент поглощения в максимуме этой полосы, d – толщина слоя раствора. Для нахождения значений ε и K_d воспользовались уравнением [1]:

$$D / d = (\varepsilon^2 / 2 K_d) \cdot (C_0^a \cdot d / D) - \varepsilon / 2 K_d, \quad (4)$$

которое получается из соотношений (2) и (3).

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИМЕРИЗАЦИИ ФЕНИЛАНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Графическое изображение зависимости (4) в координатах D/d от $C_0^a \cdot d/D$ для фиксированной температуры представляет собой прямую линию, наклон которой определяется величиной $\varepsilon^2/2K_d$, а точка пересечения с осью абсцисс – величиной $1/\varepsilon$. Для растворов ФАК в C_2Cl_4 такие графики приведены на рис. 1 для температур 25, 40, 55, 70, 85 и 100 °С.

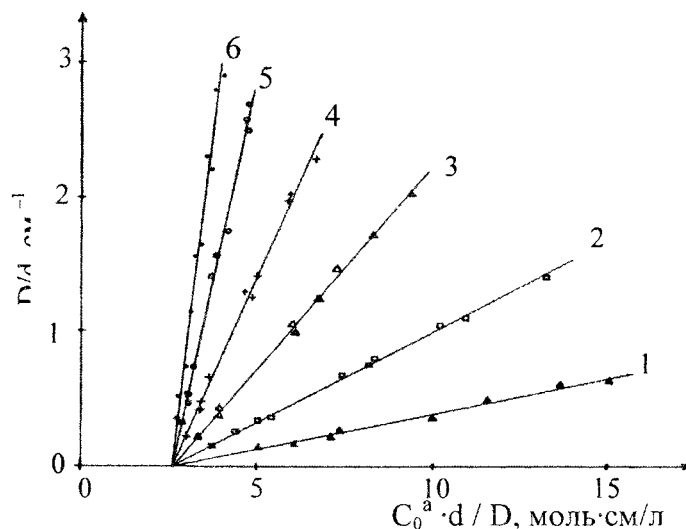


Рис. 1. Графики зависимости D/d от $C_0^a \cdot d/D$ для растворов ФАК в C_2Cl_4 Температуры °С: 1 – 25, 2 – 40, 3 – 55, 4 – 70, 5 – 85 и 6 – 100.

Из рис. 1 видно, что прямые, соответствующие разным температурам практически пересекаются в одной точке. Это означает, что коэффициент поглощения ε в максимуме полосы ν_{OH} мономеров ФАК не зависит от температуры. Полученное таким образом значение ε оказалось равным 390 ± 35 л/моль·см. Из графиков, представленных на рис. 1, были определены значения $\varepsilon^2/2K_d$ для каждой рабочей температуры. По найденным значениям ε и $\varepsilon^2/2K_d$ были рассчитаны величины K_d . Значения ΔH и ΔS димеризации ФАК определялись из графика зависимости $\lg K_d$ от $1/T$, который представляет собой прямую линию в рабочей области температур. Полученные значения $-\Delta H$ и $-\Delta S$ димеризации ФАК оказались равными $10,6 \pm 1,0$ ккал/моль и $21,4 \pm 3,9$ кал/моль·град соответственно.

Сравнение полученного значения $-\Delta H$ димеризации ФАК со значениями $-\Delta H$ димеризации салициловой кислоты (10,4 ккал/моль) [8], в которой также имеется ВВС и бензойной (10,1) [6], пентахлорбензойной (10,3) [6], ацетилсалициловой (10,8 ккал/моль) [8] кислот (растворы в CCl_4), в которых нет ВВС, показывает, что в пределах ошибки эксперимента значения $-\Delta H$ димеризации этих кислот совпадают. Несколько отличается значение $-\Delta H = 8,8$ ккал/моль [6] димеризации пентафторбензойной кислоты (раствор в CCl_4). Этот случай, возможно, требует более детального рассмотрения. Если же учесть более сильное взаимодействие

мономерных молекул кислоты с молекулами растворителя, чем димерных [2,10], то отличие значения $-\Delta H$ димеризации пентафторбензойной кислоты не будет слишком существенным.

ВЫВОД

На основании полученных данных можно заключить, что в ФАК, также как и в салициловой кислоте [8], уменьшение электронодонорной способности карбонильной группы, обусловленное участием этой группы во внутримолекулярной водородной связи и влиянием электронных эффектов заместителя, компенсируется увеличением протондонорной способности гидроксильной группы.

Список литературы

1. Смолянский А.Л. Определение энергии водородной связи изомаляной кислоты в растворах по инфракрасным спектрам // Опт. и спектр. – 1962 – Т. 13. – № 4. – С. 475-479.
2. Christian S.D., Stevens T.L. Association of trifluoroacetic acid in vapour and in organic solvents // J. Phys. Chem. – 1972 – V. 76 – № 14. – P. 2039 – 2044.
3. Сечкарев А.В., Колесникова А.А. Спектроскопическое исследование ассоциации карбоновых кислот и их перфторпроизводных в газовой фазе // Спектроскопия и ее применение в геофизике и химии. – Новосибирск: Наука (Сиб. отд.), 1975 – С. 283-286.
4. Lumbroso-Boder N., Coupry C., Baron D., Dimerization of carboxylic acids. Vapour phase NMR Study // J.Magnet. Res. – 1975. – V. 17. – P. 386-392.
5. Герасимов И.В., Тохадзе К.Г. Спектроскопическое определение энергии комплексов трифторуксусной кислоты с акцепторами протона газовой фазе // Журн. прикл. спектр. – 1977. – Т. 26. – № 6. – С. 1068-1072
6. Жукова В.А., Тарасова Л.И., Шейх-Заде М.И. Димеризация бензойной кислоты и её пентахлор – и пентафторзамещённых // Теор. и экспер. хим. – 1978. – Т. 14. – № 3. – С. 396 – 398.
7. Перельгин И.С., Афанасьева А.М. О природе влияния растворителя на спектроскопическое определение энергии образования комплексов с водородной связью // Журн. прикл. спектр. – 1979. – Т. 30. – № 4. – С. 754-759.
8. Нагибина Т.И., Смолянский А.Л., Шейх-Заде М.И. Сравнительная характеристика протондонорной способности салициловой и ацетилсалициловой кислот // Журн. общ. химии. – 1982. – т.52. – №4. – С. 754-759.
9. Шейх-Заде М.И., Спектроскопическое исследование молекулярных форм фенилантраниловой кислоты // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского, Сер. «Биология, химия» – 2006. – т. 19(58). – № 4. – С. 241-244.
10. Щепкин Д.Н., Шувалова Е.В. Некоторые вопросы спектроскопии водородной связи // Спектроскопия взаимодействующих молекул. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1970. – С. 98-125.

Шейх-Заде М.И. Дослідження димеризації фенілантранілової кислоти за ІЧ спектрами поглинання // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 131-135.

Одержано інфрачервоні спектри розчинів фенілантранілової кислоти у C_2Cl_4 у області валентних коливань ОН-групи в інтервалі температур 25 – 100 °С. Одержано значення константи димеризації K_d при різних температурах. Из температурної залежності K_d знайдено значення $-\Delta H$ і $-\Delta S$ димеризації цієї кислоти. Зроблено висновок що зменшення електронодонорної здатності карбонільної групи компенсується збільшенням протондонорної здатності гідроксильної групи.

Ключові слова: інфрачервоні спектри, фенілантранілова кислота, константа димеризації,

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИМЕРИЗАЦИИ ФЕНИЛАНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

енгальпія.

Sheikh-Zade M.I. Research on phenylantranlyic acid's dimerization by IR absorption spectra // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 2. – P. 131-135.

Infrared spectra of phenylantranlyic acid's solutions in C_2Cl_4 in the field of valency vibration of OH-group in the temperature interval 25 – 100 °C have been received. Constant of dimerization K_d values under different temperatures have been obtained. Depending on the temperature of K_d the values of $-\Delta H$ and $-\Delta S$ dimerization of this acid were found. A conclusion has been made that reduction of electronodonation capacity of carbonyl group is being compensated by the increase of protonodonation capacity of hydroxyl group.

Keywords: infrared spectra, phenylantranlyic acid, constant of dimerization, enthalpy.

Поступила в редакцию 05.10.2007 г.

УДК 546.562 + 547.288.3 + 548.737

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА БИЯДЕРНОГО КОМПЛЕКСА МЕДИ(II) С АЦИЛДИГИДРАЗОНОМ ЯНТАРНОЙ И ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ

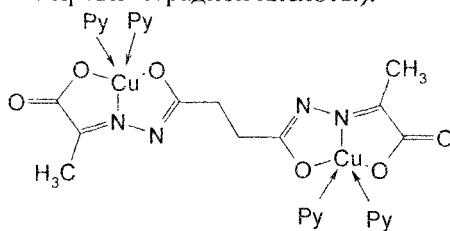
Шульгин В.Ф., Русанов Э.Б., Обух А.И.

Описаны результаты рентгеноструктурного анализа биядерного комплекса меди(II) с ацилдигидразоном янтарной и пировиноградной кислоты состава $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot 4\text{Py}]\cdot 2\text{Py}$. Кристаллы моноклинные: $a = 14.3795(6)$, $b = 8.8736(4)$, $c = 15.9147(7)$ Å, $\beta = 101.062(3)^\circ$, пространственная группа $P2_1/c$, $Z = 2$. Число симметрично независимых отражений с $2\sigma(I) > 2$ 2804. $R = 0.042$; $R_w = 0.087$. Центральные атомы разделены цепочкой из 7 σ -связей и расположены на расстоянии 8,922 Å друг от друга. Координационный полиэдр атома меди может быть описан как квадратная пирамида, сильно искаженная в сторону тригональной бипирамиды.

Ключевые слова: медь(II) комплексы, пировиноградной кислоты ацилдигидразоны, кристаллическая структура.

ВВЕДЕНИЕ

Димерные комплексы меди(II) являются одним из наиболее полно изученных типов координационных соединений [1-4]. В частности, в литературе описана кристаллическая структура более 120 димерных карбоксилатов меди, содержащих катионы металла, расположенные на расстоянии порядка 2,6 – 3,0 Å [5]. Значительно менее изучены биядерные комплексы с пространственно разделенными катионами меди, координационные полиэдры которых соединены полиметиленовой цепочкой (спейсером). В настоящее время описана молекулярная и кристаллическая структура двух комплексов меди со спейсерированными тетраазамакроциклическими лигандами [6,7] и четырех спейсерированных димеров меди(II), полученных на основе ацилдигидразонов алифатических дикарбоновых кислот [8 - 13]. Задачей настоящего исследования является изучение молекулярной и кристаллической структуры спейсерированного биядерного комплекса меди(II) состава $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot 4\text{Py}]\cdot 2\text{Py}$ (H_4L – ацилдигидразон янтарной и пировиноградной кислоты).



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемое координационное соединение получено взаимодействием ацилдигидразона янтарной и пировиноградной кислоты с ацетатом меди в метаноле в присутствии пиридина. Кристаллы выращены перекристаллизацией из смеси пиридин – метанол (~ 1:5 по объему). Рентгеноструктурное исследование монокристалла с линейными размерами 0.43x0.19x0.11 мм проведено при 296 К на автоматическом четырехкружном дифрактометре Bruker Smart Apex II (MoK α - излучение, графитовый монохроматор, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$, варьирование θ от 2,61 до 26,58 °, сегмент сферы $-18 \leq h \leq 14$, $-11 \leq k \leq 10$, $-19 \leq l \leq 19$. Было собрано 14216 отражений, 4116 из которых оказались симметрично независимы. Кристаллы моноклинные: $a = 14.3795(6)$, $b = 8.8736(4)$, $c = 15.9147(7) \text{ \AA}$, $\beta = 101.062(3)^\circ$, пространственная группа P2 $_1$ /c, $Z = 2$. Для состава C $_{40}$ H $_{40}$ Cu $_2$ N $_{10}$ O $_6$ $M = 883.90$ г/моль, $d_{\text{выч}} = 1.473 \text{ г/см}^3$.

Структура расшифрована прямым методом и уточнена методом наименьших квадратов в полноматричном анизотропном приближении с использованием комплекса программ SHELXS-97 и SHELXL-97 [14]. В уточнении использовано 2804 отражений с $I > 2\sigma(I)$. Окончательные значения факторов расходимости $R = 0,0421$ и $R_w = 0,0868$; GOF = 1,029. Атомы водорода посажены геометрически как "наездники" и их позиции уточнялись вместе с позициями соответствующих атомов углерода. Остаточная электронная плотность из разностного ряда Фурье составляет 0,331 и $-0,433 \text{ e/\AA}^3$. Полный набор рентгеноструктурных данных будет задепонирован в Кембриджском банке структурных данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что комплекс [Cu $_2$ L \cdot 4Py] имеет биядерное строение и состоит из дискретных centrosимметричных молекул. Две молекулы пиридина занимают полости кристаллической решетки и не координированы. Общий вид комплекса и нумерация атомов представлены на рис. 1. Наиболее важны длины связей и валентные углы приведены в табл. 1. Центральные атомы разделены цепочкой из 7 σ -связей и расположены на расстоянии 8,922 \AA друг от друга. Координационный полиэдр атома меди может быть описан как квадратная пирамида, сильно искаженная в сторону тригональной бипирамиды. Экваториальная плоскость пирамиды образована атомами O(1), O(3), N(1) ацилдигидразона и атомом азота N(3) молекулы пиридина. Атом азота второй молекулы пиридина – N(4) – занимает вершину пирамиды, а связь Cu-N(4) (2.210 \AA) несколько длиннее связи Cu-N(3) (2.010 \AA), но в то же время заметно укорочена по сравнению с аналогичными связями, обнаруженными ранее в родственных спейсерированных димерах с геометрией слегка искаженной тетрагональной пирамиды [8-13]. Атом меди отклоняется от базальной плоскости в сторону вершины пирамиды на 0.337 \AA , что сильно превышает обычное искажение данного типа (0.141 – 0.207 \AA). О промежуточной геометрии координационного полиэдра свидетельствуют также отклонения валентных углов от идеальных значений: от 5.4 до 29.6 ° для

тетрагональной пирамиды и от 6.6 до 30.4 ° для тригональной бипирамиды, экваториальная плоскость которой образована атомами азота N(1), N(2), N(3).

Длины связей и значения валентных углов внутри органических лигандов близки к обычным [15]. Карбоксильная группа координирована монодентатно (длина связи Cu(1)-O(1) составляет 1.976 Å) и асимметрична (длины связей C(1)-O(1) и C(1)-O(2) равны 1.290 и 1.222 Å соответственно).

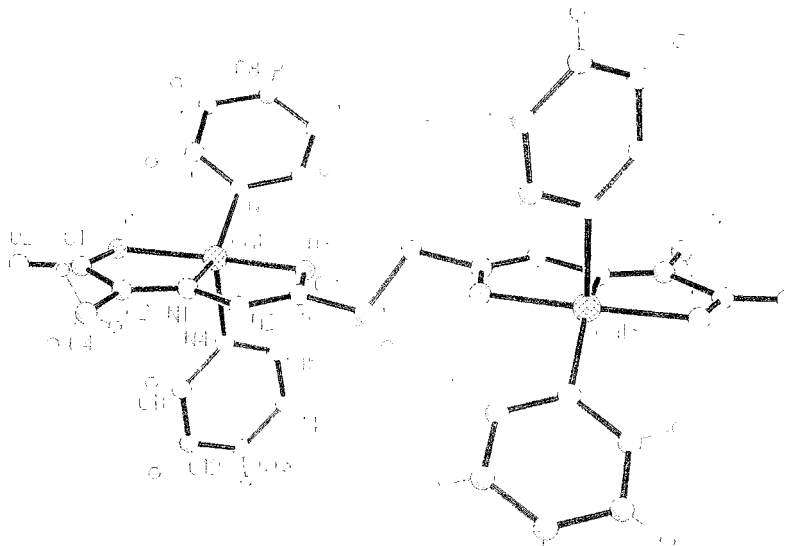


Рис. 1. Строение молекулы и нумерация атомов комплекса [Cu₂L·4Py].

Таблица 1.

Основные длины связей (d) и валентные углы (ω) в молекуле комплекса [Cu₂L·4Py].

Связь	d, Å	Угол	ω, град.
Cu(1)-N(1)	1.910(2)	N(1)-Cu(1)-O(1)	81.42(9)
Cu(1)-O(1)	1.9757(19)	N(1)-Cu(1)-O(3)	79.38(9)
Cu(1)-O(3)	1.9962(18)	O(1)-Cu(1)-O(3)	160.17(8)
Cu(1)-N(3)	2.010(2)	N(1)-Cu(1)-N(3)	150.40(10)
Cu(1)-N(4)	2.210(2)	O(1)-Cu(1)-N(3)	96.59(9)
O(1)-C(1)	1.290(3)	O(3)-Cu(1)-N(3)	97.64(8)
N(1)-C(2)	1.277(3)	N(1)-Cu(1)-N(4)	109.90(9)
N(1)-N(2)	1.390(3)	O(1)-Cu(1)-N(4)	95.78(9)
O(3)-C(3)	1.286(3)	O(3)-Cu(1)-N(4)	95.37(8)
C(3)-N(2)	1.310(3)	N(3)-Cu(1)-N(4)	99.69(9)
C(3)-C(5)	1.508(4)	C(1)-O(1)-Cu(1)	113.66(17)
O(2)-C(1)	1.222(3)	C(2)-N(1)-Cu(1)	118.11(19)
C(1)-C(2)	1.515(4)	N(2)-N(1)-Cu(1)	117.94(16)
		C(3)-O(3)-Cu(1)	109.22(16)

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА

Плоское строение хелатирующей группировки лиганда способствует делокализации двойных связей. Вследствие этого связь N(1)-N(2) (1.390 Å) несколько короче стандартной одинарной связи азот-азот (1.451 Å), несколько длиннее стандартной двойной связи азот-углерод, а связь В то же время длины связей C(3)-N(2) (1.310 Å) и C(2)-N(1) (1.277 Å) близки к значению стандартной двойной связи углерод-азот (1.34 Å). Пятичленные хелатные циклы копланарны, угол между их плоскостями составляет 3.7°.

Упаковка комплексных молекул обычная для данной пространственной группы и характеризуется разветвленной сетью коротких межмолекулярных контактов, водородные связи отсутствуют (рис. 2).

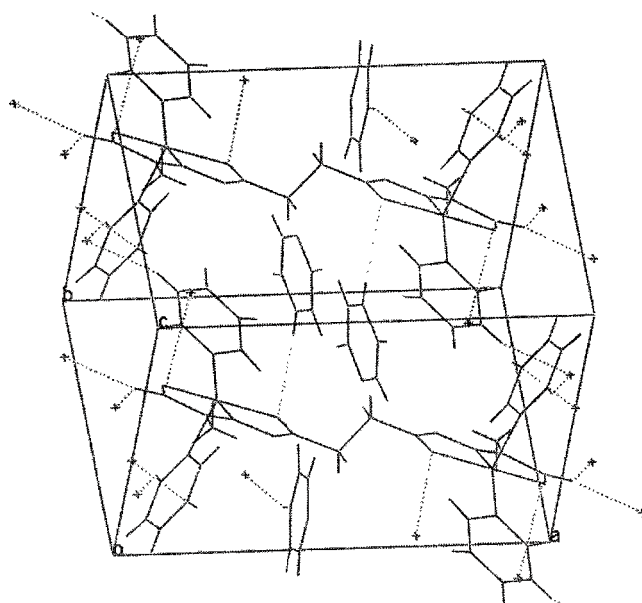


Рис. 2. Фрагмент кристаллической структуры комплекса $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot 4\text{Py}]\cdot 2\text{Py}$ (короткие контакты показаны пунктиром).

ВЫВОД

Методом рентгеноструктурного анализа объективно установлено строение спейсерированного биядерного комплекса меди(II) с ацилдигидразоном янтарной и пировиноградной кислоты.

Список литературы

1. Карлин Р. Магнетохимия. - М.: Мир, 1989. - 400 с.
2. Ракитин Ю.В., Калинин В.Т. Современная магнетохимия. - СПб.: Наука, 1994. - 276. - 276 с.
3. Ракитин Ю.В., Минин В.В., Ларин Г.М. Интерпретация спектров ЭПР координационных соединений. М.: Наука, 1993. - 399 с.
4. Яблоков Ю.В., Воронкова В.К., Мосина Л.В. Парамагнитный резонанс обменных кластеров. - М.: Наука, 1988. - 181 с.

- Sundberg M.R., Ugglar R., Melnik M. Comparison of the structural parameters in copper(II) acetate-type dimers containing distorted square pyramidal CuO_4O and CuO_4N chromophores // *Polyhedron*. – 1996. – Vol. 15, No 7. – P. 1157-1163.
- Mikuriya M., Hamada K., Kida S. The Crystal Structures of a Dicopper(II) Complex Containing Two N_4 -Macrocyclic Rings Connected with an Ethylene Chain // *Bull. Chem. Soc. Japan*. – 1985. – Vol. 58, No 6. – P. 1839-1840.
- EPR Evidence for Magnetic Exchange through a Four-Carbon Aliphatic Bridge in an Binuclear Copper(II) Complex. Single Crystal X-ray Structure of 7,7'-(1,4-butanediyl)-bis{2,12-dimethyl-3,7,11,17-tetraazabicyclo-[11.3.1]-heptadeca-1(17),2,11,13,15-pentane}nickel(II)} perchlorate monohydrate / K.A. Foster, D.R. Brown, M.D. Timken et al. // *J. Coord. Chem.* – 1988. – Vol. 19, № 1. – P. 123-137.
- Larin G.M., Shul'gin V.F., Sarnit E.A. Weak long-range spin-spin exchange interactions in a copper(II) complex // *Mendeleev Commun.* – 1999. – № 4. – P. 129-130.
- Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Сарнит Е.А. Структура и спектр ЭПР биядерных комплексов меди(II) с бис(салицилиден)гидразоном глутаровой кислоты // *Журн. неорганической химии*. – 2000. Т. 45, № 6. – С. 1010-1015.
- Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Чернега А.Н. Строение и спектр ЭПР биядерного комплекса меди(II) с адипоилбисгидразоном 2-гидроксипропиофенона // *Докл. РАН*. – 2003. – Т. 390, № 3. – С. 627-630.
- Ларин Г.М., Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Чернега А.Н. Молекулярное строение и спектры ЭПР комплексов меди(II) с ацилдигидразонами 2-гидроксипропиофенона // *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2004. – № 5. – С. 740-743.
- Шульгин В.Ф., Мельникова Е.Д., Ларин Г.М., Чернега А.Н. Молекулярная и кристаллическая структура биядерного комплекса меди(II) с ацилдигидразоном янтарной кислоты и трифторацетилацетона // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология и химия»*. Т. 19 (58), № 2. – С. 139-143.
- Шульгин В.Ф., Гусев А.Н., Чернега А.Н., Ларин Г.М. Спейсерированные биядерные комплексы меди(II) с ацилдигидразонами алифатических дикарбоновых кислот и 2-гидрокси-5-нитроацетофенона // *Известия РАН. Серия химическая*. 2007, № 2, С. 229 - 233.
- Sheldrick G.M., SHELX97. Program for the Solution of Crystal Structures. Göttingen University, Göttingen (Germany), 1997.
- Tables of lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds / F.H. Allen, O. Kennard, D.G. Watson et al. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* – 1987. – Pt. 2, № 12. – S. 1-19.

Шульгин В.Ф., Русанов Э.Б., Обух А.И. Молекулярна і кристалічна структура биядерного комплексу купруму(II) з ацилдигідрозоном янтарної та піровиноградної кислоти // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія «Біологія, хімія»*. – 2007. – Т. 20 (59). – № 2. – С. 136-141.

Описано результати рентгеноструктурного аналізу биядерного комплексу купруму(II) з ацилдигідрозоном янтарної та піровиноградної кислоти складу $[\text{Cu}_2\text{L}_4\text{Py}]_2\text{Py}$. Кристали моноклінні: $a = 14.3795(6)$, $b = 8.8736(4)$, $c = 15.9147(7)$ Å, $\beta = 101.067(3)^\circ$, просторова група $\text{P2}_1/\text{c}$, $Z = 2$. Число симетрично незалежних відбитків з $2\sigma(\text{I}) > 2\sigma(\text{II})$, $R = 0.042$; $R_w = 0.087$. Центральні атоми розділені ланцюжком із 7 σ -зв'язків і розташовані на відстані 8,922 Å один від одного. Координаційний поліедр може бути описаний як квадратна піраміда, сильно викривлена у бік тригональної біпіраміди.

Ключові слова: купрум(II) комплексн піровиноградної кислоти ацилдигідрозони, кристалічна структура.

Shul'gin V.F., Rusanov E.B., Obukh A.I. Molecular and crystalline structure of the binuclear copper(II) complexes of succinic and pyrovic acid acyldihydrazone // *Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry»*. – 2006. – V.20 (59). – № 2. – P. 136-141

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА

The results of X-ray analysis of the binuclear copper(II) complex of acyldihydrazone produced by condensation of succinic acid hydrazide and pyruvic acid with the composition of $[\text{Cu}_2\text{L}\cdot 4\text{Py}]\cdot 2\text{Py}$ were shown. It was found that crystals are monoclinic: $a = 14.3795(6)$, $b = 8.8736(4)$, $c = 15.9147(7)$ Å, $\beta = 101.062(3)^\circ$, $Z = 2$; space group $P2_1/c$. Number of the symmetrically independent reflections with $2\sigma(I) > 2$ is 2804, $R = 0.042$; $R_w = 0.087$. Central atoms were separated by the 7 σ -bonds chain and located on the distance of 8.922 Å from each other. Coordination sphere of the copper atom had strongly distorted to trigonal bipyramid tetragonal pyramidal geometry.

Keywords: copper(II) complexes, pyruvic acid acyldihydrazone, crystalline structure.

Поступила в редакцию 08.10.2007 г.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Аджигафарова
Н. С.** Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, кафедра физической и аналитической химии, специалист.
- Буков
Юрий Александрович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, заведующий кафедрой физической реабилитации, доктор биологических наук, профессор, тел. (8022) 25-33-47.
- Бугара
Александр
Михайлович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, заведующий кафедрой физиологии растений и биотехнологии, доктор биологических наук, профессор, e-mail: btc@tnu.crimea.ua, тел. 23-03-92.
- Бугара
Игорь Александрович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры ботаники, e-mail: btc@tnu.crimea.ua.
- Верко
Наталья Петровна** Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского, кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии, тел. (0652) 294-843.
- Григорьев
Павел Евгеньевич** Таврический гуманитарно-экологический институт, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии, тел. (0652) 252-516.
- Декина Светлана
Сергеевна** Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, отдел медицинской химии, аспирант, Одесса, 65080, Люстдорфская дор., 86, s.dekina@gmail.com.
- Джелдубаева
Эльвиза Рашидовна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
- Жмурова
Татьяна Анатольевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физической реабилитации, тел. (0652) 223-913.
- Журавлева Людмила
Владимировна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка 5-го курса биологического факультета, тел. (0652)230-365.
- Ибрагимова
Эвелина Энверовна** РВУЗ: Крымский инженерно-педагогический университет, преподаватель кафедры биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности, тел. (0652) 249-495.

Кабузенко Светлана Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652)230-392.
Конарева Ирина Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии, e-mail: viola@crimea.edu, тел.(0652) 440-030.
Кравченко Вікторія Іванівна	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, кандидат біологічних наук, асистент кафедри фізіології людини і тварин біологічного факультету, тел.(044)5213-283, e-mail: zhukky@ukr.net, kvitka@mail.univ.kiev.ua.
Кропотов Валерий Алексеевич	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры физической и аналитической химии e-mail: vkrpotov@crimea.edu
Крымова Валентина Витальевна	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры физической и аналитической химии, тел. (0652) 63-75-44.
Кузнецова Наталья Николаевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии растений и биотехнологии, тел. (0652)230-392.
Лысякова Наталья Юрьевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники, e-mail: lno@ukr.net.
Макарчук Микола Юхимович	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, професор, доктор біологічних наук, завідуючий кафедри фізіології людини і тварин, тел.(044)5213-283, e-mail: nikmak@biocc.univ.kiev.ua.
Махонина Марина Михайловна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
Оберемок Владимир Владимирович	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, младший научный сотрудник кафедры экологии и рационального природопользования, e-mail: genepcr@mail.ru, тел.(0652) 637-573.
Обух Андрей Иванович	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, аспирант кафедры общей химии, тел. (0652) 230-316.
Омельченко Александр Владимирович	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, старший лаборант кафедры физиологии растений и биотехнологии, e-mail: omesavl@ukr.net, тел. (0652) 230-392.

Павленко Ольга Матвеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, научный сотрудник ПНИЛ при кафедре физиологии человека и животных, тел. (0562) 637-556, e-mail: pavlenkovb@crimea.edu
Павленко Ольга Матвеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, научный сотрудник ПНИЛ при кафедре физиологии человека и животных, тел. (0652) 637-556, e-mail: pavlenkovb@crimea.edu
Романовская Ирина Игоревна	Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, кандидат химических наук, доцент, заведующая лабораторией отдела медицинской химии, Одесса, 65080, Люстдорфская дор., 86.
Русанов Эдуард Борисович	Институт органической химии НАН Украины, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории рентгеноструктурных исследований, e-mail: xray@bpci.kiev.ua.
Рыбка Татьяна Сергеевна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирантка кафедры экологии и рационального природопользования, e-mail: tanya_r@ua.fm, тел. (0652)269-834.
Севастьянов Олег Всеволодович	Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела медицинской химии, Одесса, 65080, Люстдорфская дор., 86.
Симагина Наталья Олеговна	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, ассистент кафедры ботаники, e-mail: lno@ukr.net.
Темурьянц Наталья Арменаковна.	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
Теплицкая Людмила Михайловна	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии растений и биотехнологии, e-mail: btc@tnu.crimea.ua, тел. (0652) 23-03-92.
Макарчук Микола Юхимович	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, професор, доктор біологічних наук, завідувач кафедри фізіології людини і тварин, тел.(044)5213-283, e-mail: nikmak@biocss.univ.kiev.ua.
Турта Ольга Іванівна	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, випускниця кафедри фізіології людини і тварин біологічного факультету.

- Федоренко Александр Михайлович** Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии, тел. (0652) 63-75-44.
- Чуян Елена Николаевна** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии человека и животных и биофизики, тел. (0652) 230-365, e-mail: timur@crimea.edu.
- Шейх-Заде Мамет-Исмет** Крымский инженерно-педагогический университет, кандидат физико-математических наук, старший преподаватель кафедры охраны труда в машиностроении и образовательных учреждениях, e-mail cserpu@gala.net, тел. (0652) 249-495.
- Шульгин Виктор Федорович** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей химии, тел. (0652) 230-316, e-mail: vshul@crimea.edu.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Бугара А.М., Бугара И.А., Теплицкая Л.М. ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В ЯДРАХ СЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТОК ЛАВАНДЫ (<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.)	3
Буков Ю.А., Жмурова Т.А. КОРРИГИРУЮЩИЕ ВЛИЯНИЯ РЕФЛЕКТОРНО-МЫШЕЧНОГО МАССАЖА НА СИСТЕМУ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ ДЕТЕЙ С НЕВРОЗОПОДОБНЫМИ СОСТОЯНИЯМИ НА РЕЗИДУАЛЬНО-ОРГАНИЧЕСКОЙ ОСНОВЕ	10
Ибрагимова Э.Э. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ И ФИТОТОКСИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПОЧВ КРЫМА ПЕСТИЦИДАМИ И ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ	16
Кабузенко С.Н., Кузнецова Н.Н., Омельченко А.В. ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ПРОТОННОЙ АТФазы В РАСТЕНИЯХ КУКУРУЗЫ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ	26
Кравченко В.І., Макарчук М.Ю., Турта О.І. ВПЛИВ ОДОРАЦІЇ ПРИЄМНИМИ ТА НЕПРИЄМНИМИ ЗАПАХАМИ НА ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІ ФУНКЦІЇ ЧОЛОВІКІВ І ЖІНОК	33
Конарева И.Н. ДИАГНОСТИКА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЭМОЦИЙ ПО АМПЛИТУДНО- ЧАСТОТНЫМ ПАРАМЕТРАМ РЕЧЕВОГО СИГНАЛА	40
Лысякова Н.Ю., Симагина Н.О. ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА В ПОДСЕМЕЙСТВЕ <i>LAMIOIDEAE</i> L.	46
Махонина М.М., Чуюн Е.Н., Журавлева Л.В. ПРИМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ КЛЕТОК ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДАЗЫ В НЕЙТРОФИЛАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС	54
Оберемок В.В. РАННИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В РАЗВИТИИ ЗАРАЖЕННЫХ ВИРУСОМ ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА ГУСЕНИЦ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА III-ГО ВОЗРАСТА	62
Павленко О.М. ОСОБЕННОСТИ ПАТТЕРНА ЭЭГ-ПОТЕНЦИАЛОВ У КЛИЕНТОВ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ	66

Рыбка Т.С. ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭНТОМОКОМПЛЕКСОВ В ГОРНО-ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ЮГО-ЗАПАДНОГО РАЙОНА ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА	74
Темурьянц Н.А., Н.П. Верко, П.Е. Григорьев ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА НА ДЕЙСТВИЕ ГЕЛИОГЕОФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ОТ ВЕГЕТАТИВНОГО СТАТУСА	82
Чуян О.М., Джелдубаева Е.Р. ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ОПІОІДЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ В МЕХАНІЗМАХ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОЇ ДІЇ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НАДТО ВИСОКОЇ ЧАСТОТИ	91

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Кропотов В.А. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СЛУЧАЙНЫХ ПОГРЕШНОСТЕЙ ПАРАМЕТРОВ КРИВОЙ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ: ТИТРОВАНИЕ СИЛЬНОЙ КИСЛОТЫ	108
Крымова В. В., Аджигафарова Н. С., Федоренко А. М. СОРБЦИЯ СКАНДИЯ (III) ЦЕОЛИТАМИ	121
Романовская И.И., Декина С.С., Севастьянов О.В. НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КИНЕТИКИ ГИДРОЛИЗА КАЗЕИНА ПАПАИНОМ, ТРИПСИНОМ И ЩЕЛОЧНОЙ ПРОТЕАЗОЙ ИЗ <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	126
Шейх-Заде М.И. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИМЕРИЗАЦИИ ФЕНИЛАНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ ПО ИК СПЕКТРАМ ПОГЛОЩЕНИЯ	131
Шульгин В.Ф., Русанов Э.Б., Обух А.И. МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА БИЯДЕРНОГО КОМПЛЕКСА МЕДИ(II) С АЦИЛДИГИДРАЗОНОМ ЯНТАРНОЙ И ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ	141
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	142
СОДЕРЖАНИЕ	146