

Сергеев Евгений Викторович - **редактор, к.б.н.** (Россия)
Точинов Василий Игоревич - **помощник редактор** (Россия)

Редакционный совет

- Абдель Маджид Али Амир (Казахстан)
- Бобров Борис Павлович (Украина)
- Волков Станислав Анатольевич (Россия)
- Мушеев Эдуард Вячеславович (Россия)
- Ронжин Дмитрий Владимирович (Россия)
- Хегай Сергей Игоревич (Молдова)
- Чиревко Станислав Владимирович (Казахстан)
- Чен Марина Алексеевна (Россия)
- Бочкарев Артем Сергеевич (Россия)
- Дейнека Наталья Игоревна (Россия)
- Зверев Алексей Юрьевич (Украина)
- Кан Александр Николаевич (Молдова)
- Кидяева Арина Игоревна (Казахстан)
- Коночкин Артем Игоревич (Казахстан)
- Маркеев Анатолий Федорович (Россия)

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. За достоверность сведений, изложенных в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов материалов. При перепечатке ссылка на журнал обязательна. Материалы публикуются в авторской редакции.

Международные индексы:



Сергеев Евгений Викторович - **редактор, к.б.н.** (Россия)

Точинов Василий Игоревич - **помощник редактор** (Россия)

Редакционный совет

- Абдель Маджид Али Амир (Казахстан)
- Бобров Борис Павлович (Украина)
- Волков Станислав Анатольевич (Россия)
- Мушеев Эдуард Вячеславович (Россия)
- Ронжин Дмитрий Владимирович (Россия)
- Хегай Сергей Игоревич (Молдова)
- Чиревко Станислав Владимирович (Казахстан)
- Чен Марина Алексеевна (Россия)
- Бочкарев Артем Сергеевич (Россия)
- Дейнека Наталья Игоревна (Россия)
- Зверев Алексей Юрьевич (Украина)
- Кан Александр Николаевич (Молдова)
- Кидяева Арина Игоревна (Казахстан)
- Коночкин Артем Игоревич (Казахстан)
- Маркеев Анатолий Федорович (Россия)

Художник: Вернандский Д.К.

Верстка: Артемьев З.Л.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций.

Научный фонд "Биолог"

Адрес: Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046

Адрес электронной почты: office@biologyfond.ru

Адрес веб-сайта: <http://biologyfond.ru/>

Учредитель и издатель Научный фонд "Биолог"

Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046

СОДЕРЖАНИЕ

ФИЗИОЛОГИЯ

- Бевзюк Д.А.**
ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГИПОТАЛАМУСА И ЦЕНТРАЛЬНОГО СЕРОГО ВЕЩЕСТВА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС 6
- Исаева И.А., Балашов В.П., Балашов А.В.**
ВЛИЯНИЯ НЕОТОНА И КАРНИТИНА ХЛОРИДА НА МЫШЕЧНУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ СТАТИЧЕСКОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ..... 9
- Малюжинская Н.В., Клиточенко Г.В., Тонконоженко Н.Л., Кривоножкина П.С.**
ВЛИЯНИЕ МЕТОДОВ ДИНАМИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ НА ПРОЦЕССЫ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ У ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ 12
- Наумов Д.Ю., Наумова В.В.**
ВАРИАбельНОСТЬ КАРДИОРИТМА В ЮНОШЕСКОМ ВОЗРАСТЕ..... 15
- Солин А.В., Ляшев Ю.Д., Сериков В.С.**
ВЛИЯНИЕ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ И МЕЛАТОНИНА НА ПРОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У ЖИВОТНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС 18

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

- Азизова Ф., Ботиралиева Г., Турдиева Г.**
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОСТНАТАЛЬНОГО СТАНОВЛЕНИЯ ОРГАНОВ ИММУНОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ МАТЕРИ..... 22
- Азизова Ф.Х., Атаджанова А.Н., Ишанджанова С.Х.**
СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ТОНКОЙ КИШКИ НА АНТИГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА 24
- Хамракулова М.А., Шермуратов А.Р.**
ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ И КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ МНОГОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ ОМАЙТ..... 27
- Юлдашева М., Азизова Ф.Х., Тухтаев К.Р.**
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНГИБИРОВАНИИ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ 29
- Нугманова У.Т.**
СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНО – ВСАСЫВАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПРОЦЕССЕ ИНТЕГРАЦИИ И ИММУННОЙ ФУНКЦИЙ ТОНКОЙ КИШКИ 32

БОТАНИКА

- Пастухова А.И., Петрова Н.А., Шилова И.В., Кашин А.С.**
МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ *Calophaca wolgarica* (L. fil.) DC. В ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯХ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ..... 36
- Петрищева Т.Ю.**
ПРОБЛЕМЫ РЕИНТРОДУКЦИИ НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ЛИПЕЦКОЙ ОБЛАСТИ..... 38
- Кашин А.С., Петрова Н.А., Шилова И.В.**
СТРУКТУРА ИЗМЕНЧИВОСТИ НЕКОТОРЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТЮЛЬПАНА ШРЕНКА (*TULIPA SCHRENKII* REGEL) 40
- Тихонова С.В., Петров С.С.**
ОСОБЕННОСТИ ФЛОРИСТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И СОСТАВА ЗАБРОШЕННЫХ САДОВО - ОГОРОДНЫХ УЧАСТКОВ ГОРОДА КУМЕРТАУ (РЕСПУБЛИКА БАШКОРТОСТАН)..... 43
- Якупова Р.А., Петров С.С.**
ЭЛЕВАТОРЫ КАК ОЧАГ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АДВЕНТИВНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ..... 45

БИОХИМИЯ

Котова М.В., Рябченко А.В., Поляков Л.М.
ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АПОЛИПОПРОТЕИНА А-1 ЧЕЛОВЕКА В КОМПЛЕКСЕ С ЭСТРИОЛОМ НА БИОСИНТЕЗ ДНК В КУЛЬТУРЕ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС 47

Твердохлеб Н.В., Князев Р.А., Поляков Л.М.
ВЛИЯНИЕ АПОЛИПОПРОТЕИНА А-1 В КОМПЛЕКСЕ С АКТИНОМИЦИНОМ Д НА БИОСИНТЕЗ ДНК В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА..... 53

Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Рязанцева Н.В.
ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ 50

ЭКОЛОГИЯ (ПО ОТРАСЛЯМ)

Артамонов Г.Е.
БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ДЛЯ РАСЧЁТА ИНДЕКСА ВОЗДЕЙСТВИЯ АЭС И ГЭС НА ЭКОСИСТЕМЫ 57

Гулай А.В.
ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ARVICOLA TERRESTRIS С БАКТЕРИЯМИ ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE..... 60

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Давидянц Э.С.
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ *SILPHIUM PERFOLIATUM* НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЗЕРНОВУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ 62

Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В.
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ АЛОЕ 65

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Епифанова Е.А., Борисова Е.В., Салина В.А.
ПОЛУЧЕНИЕ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА BDNF..... 70

Соколик В.В.
КОДИРОВАНИЕ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ И СТРУКТУРНОГО ШАБЛОНА БЕЛКА В ГЕНОМЕ ЭУКАРИОТ ... 73

ЗООЛОГИЯ

Афанасьева А.Н.
РАСПРОСТРАНЕНИЕ БРАХИОПОД ГОРНОГО МАССИВА ШАХ-ТАУ 78

Батова О.Н., Немченко Л.А.
ОСОБЕННОСТИ СОЦИОДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ГНЕЗДОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВАРАКУШКИ (*LUSCINIA SVECICA*) В САРАТОВСКОМ ЗАВОЛЖЬЕ 79

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

Щепеткина С.В., Степанова А.П., Ловцова Л.Б., Проккоева Ж.А.
СИМБИОТИЧЕСКИЙ БИОКОМПЛЕКС НА ОСНОВЕ ЛАКТОБАКТЕРИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫЙ В КОРМОВЫХ ПРОДУКТАХ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ 83

Шумилина Н.Н., Новиков М.В.
ВЛИЯНИЕ УСКОРЕНИЯ РОСТА ВОЛОСЯНОГО ПОКРОВА ШИНШИЛЛ НА КАЧЕСТВО ШКУРОК 85

ЭНТОМОЛОГИЯ

Трущицына О.С., Ананьева С.И.
ЖУЖЕЛИЦЫ (COLEOPTERA, CARABIDAE) ЛУГОВЫХ ЭКОСИСТЕМ ЗАПОВЕДНИКА ПАСВИК..... 89

ХИМИЧЕСКАЯ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

*Волков В.А., Смирнова В.А., Миташова Н.И.,
Агеев А.А.*
СИНЕРГИЗМ ТОКСИЧНОСТИ СМЕСЕЙ ПОВЕРХ-
НОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ 91

НЕЙРОБИОЛОГИЯ

Горелкин В.С., Северина И.Ю., Исавнина И.Л.
ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ НИСХОДЯЩИХ ПУТЕЙ У НАСЕКОМЫХ,
ОБЛАДАЮЩИХ РАЗЛИЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВ-
НОСТЬЮ 96

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

Брагин Е.Ю., Донова М.В.
ВЫЯВЛЕНИЕ СИТОСТЕРИН-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ У
ШТАММА *MYSOBACTERIUM* SP. ВКМ АС-1817Д 99

МИКОЛОГИЯ

Петров А.Е., Петрова М.В., Михайлова В.А.
БАЗИДИОМИКОТА ХВОЙНЫХ И СМЕШАННЫХ ЛЕСОВ
ИШИМБАЙСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТО-
СТАН 101

ГИДРОБИОЛОГИЯ

Ольховик А.В.
СОСТАВ И СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ БЕСПОЗВОНОЧ-
НЫХ ЖИВОТНЫХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЗАРОСЛЯМИ
ДОННЫХ МАКРОФИТОВ В ЭСТУАРИЯХ ПРИМОРЬЯ. 103

ГЕНЕТИКА

Шермуратов А.Р., Халиков П.Х., Курбонов А.К.
ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЦИТОГЕНЕ-
ТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АКТЕЛЛИКА 108

ВИРУСОЛОГИЯ

Боровков И.М.
ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И КЛИНИЧЕСКИЕ
ПРОЯВЛЕНИЯ ВИРУСОВ ЭБОЛА И МАРБУРГА 112

БИОФИЗИКА

Гайибова С.Н., Тукфатуллина И.И.
КОМПЛЕКСОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАРА-
АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ С ИОНАМИ КО-
БАЛЬТА 116

БИОТЕХНОЛОГИЯ (В ТОМ ЧИСЛЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ)

Пошехонцева В.Ю., Гулевская С.А., Донова М.В.
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНО- И ГЕНОТИПИЧЕ-
СКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАМ-
МОВ *STREPTOMYCES* SP. – ПРОДУЦЕНТОВ ТАКРОЛИ-
МУСА 120

ФИЗИОЛОГИЯ

Бевзюк Д.А.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ГИПОТАЛАМУСА И ЦЕНТРАЛЬНОГО СЕРОГО ВЕЩЕСТВА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ГУ "Институт неврологии психиатрии
и наркологии НАМН Украины", г. Харьков

FEATURES FUNCTIONAL RELATIONSHIPS OF HYPOTHALAMUS AND THE GRISEA CENTRALIS AT FORMATION AGGRESSIVE BEHAVIOR IN RATS.

Bevzyuk Darya Alexandrovna, PhD, Senior Researcher "Institute of Neurology Psychiatry and Addiction NAMS of Ukraine" Kharkov

АННОТАЦИЯ

Цель исследования - изучение формирования агрессии в условиях влияния на гипоталамус и центральное серое вещество (ЦСВ). В эксперименте использовались этологические и электрофизиологические методики. Установлено, что для крыс агрессоров были характерны: атаки, нападения и стойки в противостоянии. Электро-стимуляция ЦСВ повышала агрессивность, усиливая пароксизмы на ЭЭГ. Электролитическая коагуляция ЦСВ привела к утрате крысами признаков агрессивности. Сделан вывод, что одной из пусковых структур развития агрессии является ЗВМГПТ и в комплексе с ЦСВ является рабочим ансамблем обеспечения агрессии, а положительные эмоциональные центры ЗВЛГПТ являются стресс лимитирующими.

Ключевые слова: ЦСВ, гипоталамус, агрессия

ABSTRACT

The purpose of research is to study of intercommunication hypothalamus Hpt and the central gray matter (CGM) by are aggression. Ethological and electrophysiological mesods were used to the study. It was found that during the confrontation the characteristic reactions of aggressors were: attacks and vertical poses. Electrical stimulation of CGM increases aggression, strengthening paroksizmus in the EEG. Injury of CGM led to loss of aggressiveness. It was concluded that the triggering structure for development of aggression is medial Hpt, which, in complex with the CGM, is working as an ensemble to ensure aggression.

Keywords: CGM, Hpt, aggression

Проблема агрессий продолжает оставаться в числе актуальных в современных нейронауках. Агрессия – это сложное эмоциональное поведение базирующееся на агрессивности, которое формируется с неременным участием эмоциональных структур мозга [3,4,5,6,8].

В связи с этим целью данного исследования явилось изучение нейробиологических особенностей формирования агрессии в условиях направленного влияния на эмоциональные структуры мозга гипоталамуса и центрального серого вещества (ЦСВ).

Материалы и методы исследования.

Эксперимент был проведен на 18-ти крысах-самцах линии Вистар массой от 200 до 260 г в возрасте 5-6 месяцев методикой зоосоциального конфликта. Суть последней заключалась в создании эмоционального стресса у пары животных, помещенных в двухкамерную клетку с переходным отверстием, где к полу камеры был подведен переменный электрический ток. Животные в вероятностном режиме получали электрическое раздражение экстерорецепторов лапок, что приводило к возникновению эмоциональных реакций агрессивной направленности. [3,4].

Стереотаксическую операцию вживления никромовых электродов в стеклянной изоляции в эмоциональные структуры мозга осуществляли под кетаминным наркозом билатерально: с использованием атласа Фифковой и Маршала по Бурешу[1].

Электрическую активность эмоциональных структур мозга крыс регистрировали биполярно на энцефалографе фирмы «Медикор» при введении биопотенциалов в ПК в реальном режиме времени. Артериальное давление измеряли по методу Пинелеса[7]. Самостимуляцию положительных эмоциональных структур мозга проводили в камере Скенера по методу J. Olds. и Milner [9]. Билатеральное электролитическое разрушение ЦСВ осуществляли с помощью электростимулятора ЕСЛ -2 постоянным током силой 10-20 мкА (с анода) в течение 20 с.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Statistica 6.0 с использованием непараметрического критерия Вилкоксона.

Результаты исследования.

Эксперимент был проведен на 18 крысах в поведении которых четко обозначились признаки агрессивного поведения или агрессивных реакций

после тестирования по стресс-методике зоосоциального конфликта, суть которой изложена выше.

Самыми характерными реакциями у потенциальных крыс агрессоров и крыс с агрессивными тенденциями были угрозы, вертикальные стойки, преследования, сопровождающиеся вокализацией, выраженными оральными автоматизмами и отрицательным грумингом.

Каждую минуту крысы агрессоры угрожали, атаковали, преследовали своих жертв, а самой отличительной реакцией наиболее сильных агрессоров была вертикальная стойка в противостоянии. Как правило, эта реакция проявлялась на 10-15 минуте эксперимента. Очевидно в это время животное находилось на пике своей физиологической активности для достижения желаемого результата - реализации агрессивного поведения.

Следует сказать, что реакции угроз и атак было так же большое количество и они повторялись каждую минуту эксперимента. У крыс агрессоров тонус симпато-адреналовой системы возрастал, и как следствие возрастало артериальное давление со ($107,0 \pm 7,5$) мм рт. ст. до ($125 \pm 4,5$) мм рт. ст. ($p < 0,05$). После стереотаксической операции опытных крыс проверяли на наличие реакции самостимуляции с заднего вентролатерального гипоталамуса (ЗВЛГПТ), являющегося центром позитивного подкрепления. Фоновая реакция самостимуляции носила строго индивидуальный характер и в среднем по группе составляла ($208 \pm 5,8$) нажатий за пять минут, у некоторых особей во время её реализации отмечалась амбивалентность в поведенческих реакциях. После электрической стимуляции ЦСВ агрессивность у крыс возрастала, частота реакции самостимуляции при этом так же менялась в сторону увеличения количества нажатий на педаль и в среднем составила ($317 \pm 8,6$) нажатий на педаль за пять минут. Электрокоагуляция ЦСВ (выключение одного из звеньев системы неспецифической активации мозга) дифференцированно влияла на самостимуляцию латерального гипоталамуса, делая её монотонной без усиления агрессивности. При этом крысы были пассивны и миролюбивы, проявляли ориентировочно-исследовательские реакции.

Регистрация частоты реакции самостимуляции у крыс агрессоров после стресса полученного по методике зоосоциального конфликта на фоне повреждённого ЦСВ обнаруживала значительное повышение количества нажатий на педаль и составило в среднем по группе ($360 \pm 9,1$). Это свидетельствовало о том, что крысы во время реакции самостимуляции снимали стресс и им требовалось большее количество положительных эмоций нежели до стресса. В этом случае реакция самостимуляции выступала как способ лечения (подавление негативного эмоционального состояния).

В фоновой электрической активности мозга у большинства крыс агрессоров в неокортексе регистрировалась смешанная активность, где активность

в диапазоне альфа – тета- от 6 до 8 Гц регулярно перемежалась с коротким по эпохе бета- ритмом (рис 1А). В миндалевидном комплексе (МК), гипоталамусе и ЦСВ быстрая активность постоянно сменялась на высоко и среднеамплитудную медленноволновую тета- дельта активность модулированную высокочастотным бета ритмом.

После тестирования по методике зоосоциального конфликта в электрической активности МК и ЦСВ появились диффузные пароксизмы из высокоамплитудных тета волн и острых разрядов, количество дельта волн возросло, альфа и бета активность практически отсутствовали (рис 1Б).

Реакция самостимуляции на фоне полученного стресса по методике зоосоциального конфликта изменила электрогенез в неокортексе в сторону увеличения числа пароксизмальных разрядов и бета активности. В МК пароксизмальная активность стала более выраженной, чем после стресса. В состав пароксизмов входила высокоамплитудная активность в диапазоне альфа-тета при наличии пик-тета. В гипоталамусе на фоне дезорганизованной активности с доминированием альфа-тета, регистрировались модулированные бета активностью дельта-волны в виде пароксизмов. В ЦСВ на фоне сниженного электрогенеза регистрировались также пароксизмы тета-ритма (рис 1В). После электролитического разрушения ЦСВ в электрической активности новой коры отмечалось большое число острок разрядов, преобладали полиморфные тета-дельта-волны, амплитудой до 100 мкВ. Альфа и бета активность практически отсутствовала. В МК регистрировалась пароксизмальная активность в диапазоне тета-дельта – поли- и монорморфных колебаний от 100 до 200 мкВ. В гипоталамусе подобно МК сохранялась пароксизмальная активность. В ЦСВ ритмы отсутствовали, что было прямым доказательством повреждения структуры (рис.1Г). Стресс тест по методике зоосоциального конфликта повреждённого ЦСВ изменений в электрогенез не внёс. Лишь ЭЭГ новой коры обогатилась участками бета ритма (рис.1Д). После стресса и самостимуляции на фоне повреждённого ЦСВ во всех исследуемых структурах мозга отмечалось оживление электрогенеза. В новой коре дезорганизованная активность с пароксизмами трансформировалась в пароксизмальную активность в ритме альфа, тета и дельта волн (рис. 1Е). В МК и гипоталамусе также отмечались генерализованные пароксизмы [2]. В ЦСВ на фоне отсутствующей электрической активности был зарегистрирован взрыв пароксизма – 6 кол/с, который диффузно проходил по всем структурам мозга.

Принудительная стимуляция заднего вентромедиального гипоталамуса (ЗВМГРТ) на фоне разрушенного ЦСВ у агрессоров изменила электрогенез МК, где на фоне дезорганизованной активности с преобладанием тета и дельта волн, регистрировались комплексы сложной полиморфной структуры.

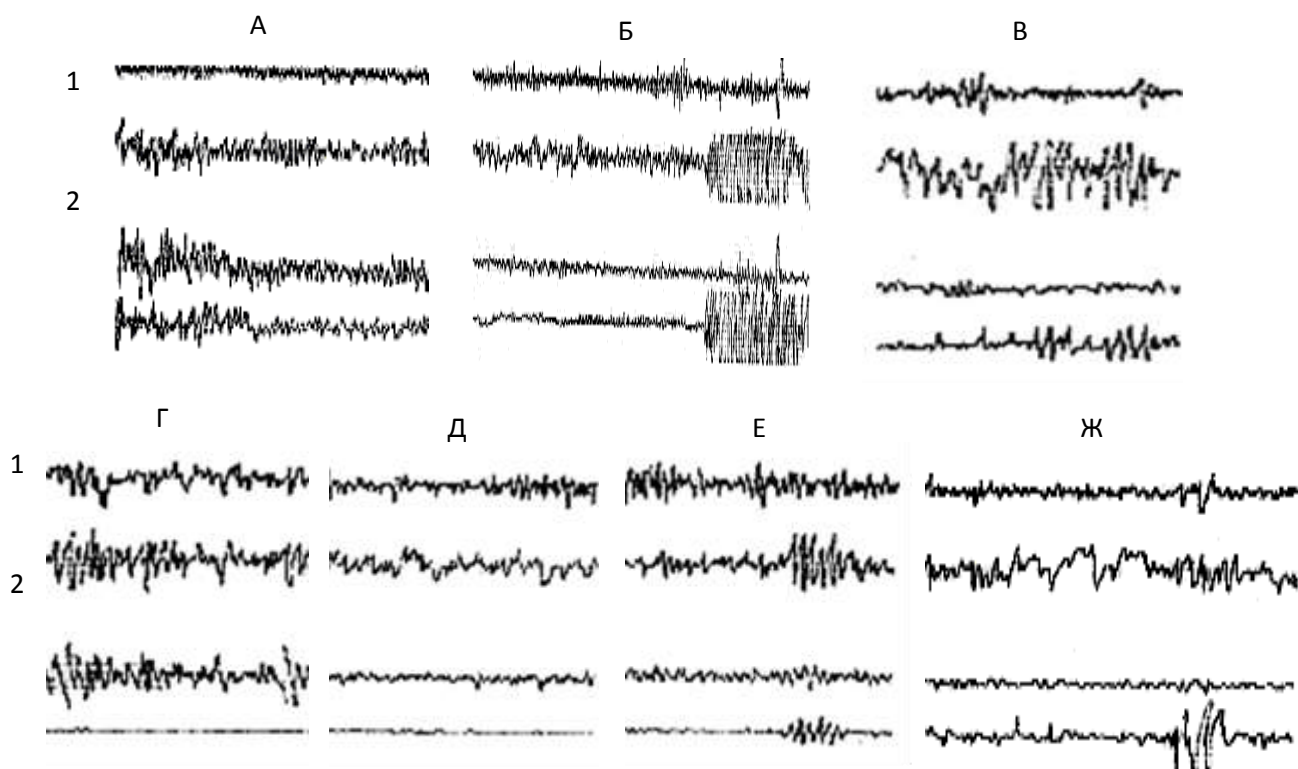


Рисунок 1 - Изменения электрической активности крысы агрессора № 2.

1-неокортекс; 2 – миндалевидный комплекс; 3-гипоталамус; 4-центральное серое вещество.

А- фоновая ЭЭГ Б - после стресс теста зоосоциального конфликта В- после стресс теста зоосоциального конфликта и СС, Г– после электролитического разрушения ЦСВ, Д – после разрушения ЦСВ и стресс теста зоосоциального конфликта, Е – после стресс теста зоосоциального конфликта и СС на фоне разрушенного ЦСВ, Ж – после принудительной стимуляции заднего вентромедиального гипоталамуса на фоне разрушенного ЦСВ.

В ЦСВ происходило возрождение ритмики с проявлением активности в диапазоне альфа- тета. Появление активности в ЦСВ свидетельствовало про некую компенсацию за счёт близлежащих неповреждённых нервных тканей(рис 1 Ж).

Выводы

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что одним из инициирующих механизмов развития агрессивного поведения является вентромедиальный гипоталамус, который в комплексе с центральным серым веществом является рабочим ансамблем обеспечения агрессивного поведения. Положительные эмоциональные центры латерального гипоталамуса являются стресс лимитирующими. Они купируют и подавляют агрессивность у крыс- агрессоров, что дополнительно активизирует процесс самостимуляции положительных зон латерального гипоталамуса.

Список литературы

1. Буреш Я., Петрань М., Захар И. Электрофизиологические методы исследования. – М.: Изд-во иностранной литературы, 1962. – 466 с.
2. Вейн А. М., Воробьева Т. М. Универсальные церебральные механизмы в патогенезе пароксизмальных состояний // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова – 1999 – Т. 99 – Вып. 12 – С. 8-12.
3. Воробьева Т. М. Бевзюк Д.А. Кириллова Н. А. Роль эмоциогенных структур мозга в механизмах формирования фобий и их возможной трансформации в агрессивное поведение у крыс// Психическое здоровье. – Москва, 2009. – № 4 (35). – С.46-51.
4. Кудрявцева Н. Н. Социобиология агрессии: мыши и люди. Химия и жизнь.-2004, №5 С. 13-17.
5. Нотова С.В., Петросиенко Е.С. Проблема эмоционального стресса и агрессивности: теории возникновения и методики их изучения // Вестник ОГУ №1/ январь 2009 С. 87-90
6. Павленко В.Б., Калашник О.А. Нейроэтология и электрофизиологические корреляты агрессивности //Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. ВернадскогоСерия «Биология, химия» Том 18 (57). 2005. № 2. С. 88-96.
7. Пинелис В. Г., Вакулин Т. П., Козлова А. В., Марков Х. М. Состояние резистивных сосудов конечностей крис с наследственно обусловленной гипертензией // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1982. – Т.94, № 10. – С.31-36.
8. Шляхова А.В., Веселовська О.В. Лімбіко-гіпоталамічні механізми агресивної поведінки

(експериментальне дослідження) // Мат. Науково-практичної конференції «Експериментальна та клінічна ендокринологія: фундаментальні та прикладні питання. –V Данилевські читання. – Харків, 2006 – С.107-108.

9. Olds J., Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain // J. Comp. Physiol. Psychol. - 1954. - № 47. - P. 419 - 427.

Исаева И.А.¹, Балашов В.П.², Балашов А.В.³

ВЛИЯНИЯ НЕОТОНА И КАРНИТИНА ХЛОРИДА НА МЫШЕЧНУЮ ВЫНОСЛИВОСТЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ СТАТИЧЕСКОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

¹Аспирант, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск

²Доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования, «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск

³Кандидат медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования, «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» г. Саранск

THE EFFECTS OF NEOTON AND CARNITINE CHLORIDE ON MUSCULAR ENDURANCE OF LABORATORY ANIMALS IN THE CONDITIONS OF A STATIC PHYSICAL LOAD.

Isaeva Irina, Postgrated student, Ogarev Mordovia State University, Saransk

Balashov Vladimir, Doctor of Biological Sciences, Professor, Ogarev Mordovia State University, Saransk

Balashov Aleksey, Candidate of Medical Sciences, Ogarev Mordovia State University, Saransk

АННОТАЦИЯ

С целью исследования физической выносливости при статической нагрузке выполнены эксперименты на белых нелинейных мышцах обоего пола ($n=24$). Нагрузку моделировали принуждением животных поддерживать вертикальное положение тела на диэлектрических стержнях в СПЕЦИАЛЬНОЙ установке. Ежедневные (10 суток) внутрибрюшинные инъекции карнитина хлорида (50 мг/кг) и неотона (100 мг/кг) кратковременно повышали физическую выносливость животных (3 суток). Препараты снижали интенсивность гемической гипоксии и предупреждали тромбоцитоз, которые в легкой степени наблюдались в контрольной серии опытов.

ABSTRACT

The experiments on white mice ($n=24$) of both genders have been made for the purpose to study the physical endurance at a static load. The load has been simulated by forcing the animals to keep a vertical body position on a dielectric rod

in special installation. During 10 days, a daily intraperitoneal injection of carnitine chloride (50 mg/kg) and neoton (100 mg/kg) increased, for a short time, the physical endurance of the animals on the third day. These drugs decreased the intensity of hemic hypoxia and prevented the thrombocytosis observed in the control series of the experiments.

Ключевые слова: статическая физическая нагрузка; карнитина хлорид; неотон; физическая выносливость.

Keywords: static physical load; carnitine chloride; neoton; physical endurance.

Спорт и физическое развитие населения России в настоящее время представляет собой одно из актуальных направлений деятельности специалистов различного профиля. Важное место в решении этой задачи отводится медицинскому компоненту. В этом аспекте особый интерес представляет собой поиск и разработка недопинговых препаратов, повышающих как физическую выносливость, так и резистентность организма к действию такого экстремального фактора, как интенсивная физическая нагрузка. [2, с. 243]. В последние годы в практике спортивной фармакологии возрастает интерес к средствам метаболического типа действия, таким как L-карнитин, карнитина хлорид, неотон (креатинфосфат), инозин, коэнзим Q и другие вещества, которые являются высокоэффективными для коррекции стрессорных и ишемических нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы, а также негативных изменений иммунологических показателей [4, с. 23; 7, с. 101]. Преимущество метаболических средств, по сравнению с синтетическими фармакологическими субстанциями, заключается в том, что первые более близки или идентичны по структуре природным биологически активным веществам, вследствие чего значительно менее токсичны для организма [4, с. 23].

Ранее в экспериментальных работах сотрудников нашей кафедры была показана высокая эффективность ряда препаратов метаболического типа действия в повышении выносливости подопытных животных в условиях динамической нагрузки [1, с. 15; 6, с. 54]. При этом осталось не изученным влияние препаратов этой группы на мышечную выносливость при моделировании статической нагрузки.

В связи с этим, целью нашего исследования явилась сравнительная оценка влияния препаратов метаболического типа действия (неотон и карнитина хлорид) на физическую работоспособность лабораторных животных в условиях статической физической нагрузки.

Материалы и методы исследования. Исследование было выполнено на 24 половозрелых белых нелинейных мышах обоего пола с массой тела $23,1 \pm 0,73$ г. Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Все экспериментальные воздействия и манипуляции осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Минздрава СССР №755 от 12.08.77г.) и требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals».

Для моделирования статической нагрузки, мышшей ежедневно помещали в специальную лабораторную установку, воспроизведенную по данным [8, с. 58; 3, с. 28]. В этой установке животных ежедневно однократно в течение 10 суток подвергали вынужденному нахождению в вертикальном положении на деревянных конических стержнях, основания которых вмонтированы в металлическую сетку. На сетку подавали постоянный электрический ток напряжением в 20-40 В. Критерием физической выносливости мышшей являлось длительность их нахождения на диэлектрическом стержне.

Животные были разделены на 4 группы по 6 особей в каждой. Животные 1-3 групп находились в

условиях вынужденной статической нагрузки. Первую группу составили контрольные животные, которые получали изотонический раствор хлорида натрия. Во вторую группу вошли мыши, которым вводили карнитина хлорид, в дозе 50,0 мг/кг. Животные третьей группы получали препарат «Неотон» в дозе 100,0 мг/кг. Исследуемые препараты вводили ежедневно однократно внутривентриально в объеме 0,1 мл за 20 минут до помещения животных в лабораторную установку. Четвертая группа была представлена шестью интактными мышами, которые находились в условиях стандартной двигательной активности.

Через 24 часа после последнего «статического теста» животных выводили из эксперимента внутривентриальной инъекцией тиопентал-натрия в дозе 40,0 мг/кг и осуществляли забор крови. Определение гематологических показателей производили на автоматическом анализаторе PCE-70 Vet (США). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента [5, с. 129].

Результаты исследования. Результаты проведенных исследований (Рисунок 1) показали, что ежедневная статическая тренировка сопровождается постепенным и стабильным увеличением физической выносливости подопытных животных. С 4 по 7 сутки эксперимента длительность пребывания мышшей на диэлектрическом стержне увеличивается на 728 – 1947% по сравнению с показателем первого дня. На восьмые сутки выносливость мышшей перестает повышаться и выходит на стационарный уровень до конца периода наблюдения (2661-2973%).

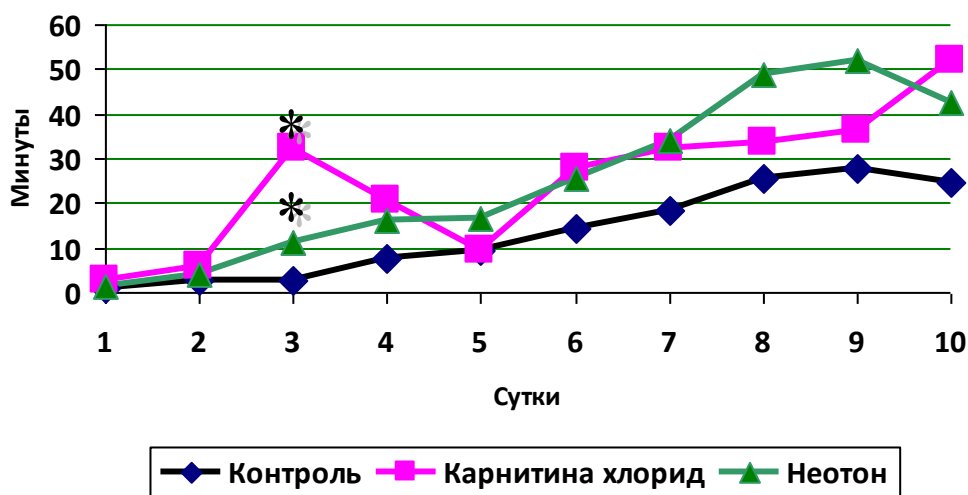


Рисунок 1. Физическая выносливость мышшей в условиях статической нагрузки и при действии карнитина хлорида и неотона.

*Примечания: * - различия статистически значимы по отношению к соответствующей точке в контрольной группе (при $p < 0,05$).*

Неотон и карнитина хлорид несколько изменяют динамику выносливости животных в условиях моделирования статического напряжения. Оба препарата на протяжении всего периода наблюдения

проявляют явную тенденцию к увеличению продолжительности статической нагрузки в экспериментальной установке, причем на 3 сутки опыта этот эффект достигает статистически достоверного уровня.

Изменение физической выносливости подопытных животных не сопровождалось значительным изменением гематологических показателей их периферической крови. Данные представлены в таблице 1. Однако следует отметить, что в контрольной группе животных статическая нагрузка приводила к

небольшому, но статистически достоверному уменьшению показателей содержания гемоглобина в эритроците и повышению концентрации тромбоцитов в крови. Это позволяет предположить, что к концу периода наблюдения создаются условия к формированию легкой гемической гипоксии и некоторому повышению риска тромбоцитарных реакций.

Таблица 1.

Гематологические показатели крови мышей в условиях статической нагрузки и при фармакологической коррекции.

	Интактные	Контроль	Карнитина хлорид	Неотон
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,83 \pm 0,655	3,28 \pm 0,515	2,35 \pm 0,763	3,43 \pm 0,793
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,35 \pm 0,406	1,72 \pm 0,307	1,50 \pm 0,499	1,75 \pm 0,598
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,17 \pm 0,049	0,13 \pm 0,021	0,12 \pm 0,040	0,17 \pm 0,033
Гранулоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,32 \pm 0,300	1,43 \pm 0,274	0,73 \pm 0,235	1,52 \pm 0,255
% лимфоцитов	45,53 \pm 7,731	52,43 \pm 4,795	61,95 \pm 3,448	45,90 \pm 6,392
% моноцитов	6,05 \pm 0,923	4,80 \pm 0,326	5,68 \pm 0,562	6,37 \pm 1,108
% гранулоцитов	48,42 \pm 7,008	42,77 \pm 4,668	32,37 \pm 2,946	47,73 \pm 5,454
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	8,85 \pm 0,528	8,89 \pm 0,421	6,63 \pm 0,960	9,17 \pm 0,315
Гемоглобин, г/л	115,7 \pm 6,190	101,8 \pm 6,887	79,8 \pm 12,216	112,5 \pm 4,617
Гематокрит, у.е.	31,43 \pm 1,949	29,70 \pm 1,957	22,20 \pm 3,333	33,00 \pm 1,432
Средний объем эритроцита, фл	35,57 \pm 0,574	33,35 \pm 0,859	33,53 \pm 0,907	36,12 \pm 1,382
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	13,05 \pm 0,136	11,37 [#] \pm 0,355	11,92 \pm 0,334	12,20 \pm 0,153
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	372,8 \pm 5,23	342,3 [#] \pm 5,48	357,6 \pm 6,13	342,1 \pm 12,63
Тромбоциты $\times 10^9/\text{л}$	740,3 \pm 116,0	1265,8 [#] \pm 80,2	326,0* \pm 231,0	973,8 \pm 117,5
Средний объем тромбоцита, фл	4,85 \pm 0,238	4,80 \pm 0,272	6,05* \pm 0,424	4,73 \pm 0,165

Примечания: * - различия статистически значимы по отношению к показателю контрольной группы при $p < 0,05$; # - различия статистически значимы по отношению к показателю интактной группы при $p < 0,05$.

На фоне терапии животных препаратами карнитина хлоридом и неотонном выявленные негативные эффекты статической физической нагрузки приобретают характер тенденции. Карнитина хлорид в отличие от неотона вызывает резкое снижение содержания тромбоцитов крови, и, тем самым, уменьшает мощность тромбоцитарного звена гемостаза.

Выводы: 1. Карнитина хлорид (50 мг/кг) и неотон (100 мг/кг) при ежедневном внутривнутрибрюшинном введении вызывают кратковременное повышение физической выносливости лабораторных грызунов и устойчивую тенденцию к увеличению продолжительности статической нагрузки.

2. Препараты частично компенсируют негативные эффекты статической физической нагрузки на такие гематологические показатели подопытных животных как среднее содержание гемоглобина в эритроците и количество тромбоцитов в периферической крови.

Исследование выполнено при поддержке проекта в рамках базовой части Государственного задания ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» (код проекта 2859).

Список литературы:

1. Альмяшева М.И., Балашов В.П., Ивянский С.А., Маркелова И.А., Кулькова Н.П., Балыкова Л.А. 2007. Исследование влияния препаратов метаболического типа действия на толерантность к физическим нагрузкам в эксперименте / Вопросы курортологии физиотерапии и лечебной физической культуры. 4: 15-17.
2. Багметова В.В., Кривицкая А.Н., Тюренков И.Н., Брестовицкая В.М., Васильева О.С. 2012. Влияние фенибута и его соли с янтарной кислотой на устойчивость животных к форсированным физическим нагрузкам / Фундаментальные исследования. 4: 243-246.

3. Бархина Т.Г., Криштоп В.В., Полянская Л.И. 2006. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы в условиях динамической и статической физических нагрузок / Вестник Ивановской медицинской академии. 11 (1-2): 27-31.
4. Безуглая В.В. 2014. Перспективы применения метаболитотропных препаратов в системе стресс-протекции сердечно-сосудистой системы / Спортивная медицина: наука и практика. 1: 22-24.
5. Закс Л. (Перевод с немец.) Статистическое оценивание. 1976. М.: Статистика. 598 с.
6. Ивянский С.А., Балашов В.П., Балыкова Л.А., Липатова Н.А. 2005. Влияние некоторых метаболитических средств на толерантность к физическим нагрузкам и уровень катехоламинов в миокарде / Матер. всерос. науч.-практ. конф.: Общество, здоровье, лекарство, посвящен. памяти проф. Я.В. Костина. Саранск 20-21 октября 2005: 54.
7. Ивянский С.А., Солдатов О.М., Щекина Н.В., Теплова Н.С., Балыкова Л.А. 2012. Новые аспекты применения L-карнитина в спортивной практике / Ульяновский медико-биологический журнал. 3: 97-103.
8. Резвяков Н.П., Абдулхаев Ф.А., Абдуллин А.Р. 1980. Морфологическая и морфометрическая характеристика скелетных мышц крыс после длительной статической нагрузки / Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. LXXVIII (5): 57-64.

Малюжинская Н.В.¹, Клиточенко Г.В.², Тонконоженко Н.Л.³, Кривоножкина П.С.⁴

ВЛИЯНИЕ МЕТОДОВ ДИНАМИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ НА ПРОЦЕССЫ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ У ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

¹док.мед.наук, зав.кафедрой детских болезней Волгоградского Государственного Медицинского Университета; ²док.мед.наук, профессор кафедры детских болезней Волгоградского Государственного Медицинского Университета; ³канд.мед.наук, доцент кафедры детских болезней Волгоградского Медицинского Университета; ⁴аспирант кафедры детских болезней Волгоградского Государственного Медицинского Университета

INFLUENCE OF METHODS OF DYNAMIC ELECTRONEUROSTIMULATION ON THE PROCESSES OF NEUROPLASTICITY IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY

Maluzhinskaia Natalia, MD, head of the Pediatrics' diseases department of Volgograd State Medical University

Klitochenko Grigori, MD, professor of the Pediatrics' diseases department of Volgograd State Medical University

Tonkonozhenko Nelli, Candidate of Science, associate professor of the Pediatrics' diseases department of Volgograd State Medical University

Krivozhkina Polina, Graduate student of the Pediatrics' diseases department of Volgograd State Medical University

АННОТАЦИЯ

В данной статье проводится изучение влияния метода динамической электростимуляции на некоторые параметры нейропластичности у детей от 1 до 3 лет с гемиплегической формой детского церебрального паралича в сравнении с детьми того же возраста, страдающими гемиплегической формой детского церебрального паралича, получающими стандартную медикаментозную терапию.

ABSTRACT

In this article, we study the influence of the dynamic electroneurostimulation on the same parameters of neuroplasticity in children from 1 to 3 years with hemiplegic form of the cerebral palsy compared with children of the same

age, suffering from hemiplegic form of the cerebral palsy and receiving standard medical therapy.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, гемиплегия, нейропластичность, динамическая электростимуляция

Key words: cerebral palsy, hemiplegia, neuroplasticity, dynamic electroneurostimulation

Для оценки границ нейропластичности группу детей с гемиплегической формой детского церебрального паралича мы разделили на 2 подгруппы по 90 человек. В 1ую подгруппу вошли дети в возрасте 1-3 лет с гемиплегической формой ДЦП, которые получали в течение 6 месяцев стандартную медикаментозную терапию, согласно протоколам стандартизации медицинской помощи при данном заболевании. Во вторую группу были включены дети в возрасте 1-3 лет с гемиплегической формой ДЦП, которые получали, помимо стандартной терапии, сеансы ДЭНАС-лечения (динамической электростимуляции) также в течение 6 месяцев.

На первоначальном этапе первой группе проводилось обследование в соответствии с приказом от 29 ноября 2004 г. № 288 «Об утверждении стандарта

медицинской помощи больным детским церебральным параличом»: сбор анамнеза и жалоб, визуальное исследование, исследование чувствительной, двигательной сферы (у 59 ребёнка был диагностирован правосторонний, у 31 – левосторонний гемипарез), УЗИ головного мозга (нейросонография), МРТ/КТ головного мозга [1, с 3-38, 5, с 2-3].

До проведения стандартных лечебных мероприятий было определено исходное состояние нервной системы, т.е. обозначены границы нейропластичности: мы оценили биоэлектрическую активность головного мозга с помощью электроэнцефалографии, выявили структурные изменения нервной ткани на магнитно-резонансной томографии, провели тщательный неврологический осмотр.

Согласно полученным данным, у детей 1 года на ЭЭГ отмечались выраженные колебания альфа-активности синусоидального характера во всех исследуемых областях с частотой 5-7 Гц. Альфа-подобный тета-ритм является онтогенетическим вариантом альфа-ритма, и в данном случае отличалась нестабильностью, составляя всего 20% общего времени записи [1, с 35-36]. Основная доля была представлена тета-ритмом (64%) и дельта-ритмом (59%). У детей 2 лет в данной группе, помимо повсеместно регистрируемой альфа-активности с высокоамплитудными колебаниями 6-7,5 Гц, амплитудой 200 мкВ, были выявлены бета-волны частотой 18-25 Гц в лобно-центральных областях. Индекс активности альфа-подобного ритма составил 50%. Кроме того, имели место полифазные потенциалы, представленные альфа-волной и медленной волной, идущей до или после альфа-волны [3, с 77-78]. Полифазные потенциалы регистрировались билатерально-синхронно, либо асимметрично, либо попеременно преобладали над одним из полушарий. А также отмечается снижение индекса активности дельта-ритма до 54-58%. У детей 3 лет альфа-активность преобладала в теменно-затылочных долях, периодически имела заострённую форму, а также сочеталась с высокоамплитудными колебаниями частотой 7,5-8 Гц. Индекс активности альфа-ритма составил 23-28%. При этом доминировал тета-диапазон с увеличенной частотой в сравнении с детьми 2х лет, индекс активности тета-волн достигнул 42-44%, а индекс активности дельта-волн снизился до 40-42%.

После проведённого обследования в течение 6 месяцев первой группе проводилось стандартное лечение в соответствии с приказом от 29 ноября 2004 г. № 288 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным детским церебральным параличом»: диета (высокоэнергетическая, калорийная пища, богатая белками животного происхождения), медикаментозная терапия (миорелаксанты из расчёта 5-10

мг/кг/с 3р/день 10 дней, диуретики детям 1 года 50мг/сут, 2х лет 75-100мг/сут, 3х лет 100-125мг/сут, ноотропы 0,5 мг/кг в/м 10 дней)

В первой группе не применялись физиотерапевтические методы лечения.

Через 6 месяцев у данной группы был проведён повторный осмотр и обследование структуры и функций нервной системы для изучения результативности процессов нейропластичности.

Согласно полученным данным, у детей 1 года через 6 месяцев на ЭЭГ сохранялись альфа-активность в виде синусоидальных колебаний с преобладанием в затылочных областях исследуемых областей с частотой 5-7 Гц, по-прежнему характеризующаяся нестабильностью, но составляя уже 25-30% общего времени записи [4, с 187-188]. Преобладающими ритмами были тета-ритм (25%) и дельта-ритм (47%), на них накладывались альфа и тета-колебания. Однако, индекс активности тета-ритма и дельта-ритма снизились соответственно до 25% и 47% по сравнению с данными до лечения. У детей 2 лет в данной группе регистрировались альфа-активность с частотой до 7,5-8 Гц, а также бета-волны частотой 16-20 Гц. Кроме того, имели место полифазные потенциалы, представленные альфа-волной и медленной волной, идущей до или после альфа-волны. Полифазные потенциалы регистрировались билатерально-синхронно, либо асимметрично, либо попеременно преобладали над одним из полушарий. У детей 3 лет альфа-активность также регистрировалась по всем полям, но преобладала в теменно-затылочных долях, а также сочеталась с высокоамплитудными колебаниями частотой от 2 до 6 Гц. Индекс активности составил 30%. При этом доминировал тета-диапазон с увеличенной частотой в сравнении с детьми 2х лет, индекс активности тета-волн достигнул 38%, а индекс активности дельта-волн снизился до 35%.

На выполненных МР-томограммах головного мозга существенных макроскопических структурных изменений не было выявлено.

Подводя итог, можно сказать, что в результате проведённого в течение 6 месяцев лечения в данной группе было отмечено изменение функционального состояния нервной ткани, а именно изменение биоэлектрической активности головного мозга. Положительная динамика электрофизиологических изменений состоит в том, что имеется тенденция к уменьшению представительства медленноволновой активности, т.е. снижается частота и индекс активности тета- и дельта-ритмов; наряду с этим, выявляется рост частоты и индекса активности альфа-ритма, появление и развитие бета-ритма [1, с38, 2, с137].

Так же, как и в предыдущей группе, во второй группе пациентам проводилось обследование в соответствии с приказом от 29 ноября 2004 г. № 288 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным детским церебральным параличом»

До проведения стандартных лечебных мероприятий было определено исходное состояние нервной системы, т.е. обозначен диапазон нейропластичности: мы оценили биоэлектрическую активность головного мозга с помощью электроэнцефалографии, выявили структурные изменения нервной ткани на магнитно-резонансной томографии и/или нейросонографии, провели тщательный неврологический осмотр. Результаты проведенного первоначального обследования не имели достоверных отличий от исходных данных в первой группе пациентов с детским церебральным параличом.

После проведенного обследования в течение 6 месяцев первой группе проводилось стандартное лечение в соответствии с приказом от 29 ноября 2004 г. № 288 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным детским церебральным параличом» (см. выше).

К вышеуказанному лечению в данной (второй) группе применили методы ДЭНАС-лечения (динамической электронейростимуляции).

Через 6 месяцев у данной группы был проведен повторный осмотр и обследование структуры и функций нервной системы для изучения результативности процессов нейропластичности.

Согласно полученным данным, у детей 1 года через 6 месяцев на ЭЭГ сохранялись выраженные колебания альфа-активности синусоидального характера во всех исследуемых областях с частотой 4-5 Гц, характеризующаясь значительно меньшей нестабильностью, чем в первой группе (после стандартного лечения), составляя уже 35-40% общего времени записи. Преобладающими ритмами по-прежнему оставались тета-ритм (25%) и дельта-ритм (47%), при этом индекс активности тета-ритма и дельта-ритма снизились соответственно до 23% и 42% по сравнению с данными до лечения. У детей 2 лет в данной группе регистрировались альфа-активность с частотой до 2-3 Гц, а также бета-волны частотой 14-16 Гц. Кроме того, имели место полифазные потенциалы, представленные альфа-волной и медленной волной, идущей до или после альфа-волны [3, с72-73, 4, с186-188]. Полифазные потенциалы регистрировались билатерально-синхронно, либо асимметрично, либо попеременно преобладали над одним из полушарий. У

детей 3 лет альфа-активность также регистрировалась по всем полям, но преобладала в теменно-затылочных долях, а также сочеталась с высокоамплитудными колебаниями частотой от 2 до 6 Гц. Индекс активности составил 40%. При этом доминировал тета-диапазон с увеличенной частотой в сравнении с детьми 2х лет, индекс активности тета-волн достигнул 29%, а индекс активности дельта-волн снизился до 28%.

Подводя итог, можно сказать, что в результате проведенного в течение 6 месяцев стандартного лечения, дополненного ДЭНАС-терапией, в данного группе было отмечено более значимое изменение функционального состояния нервной ткани, а именно изменение биоэлектрической активности головного мозга, по сравнению с первой группой, где проводилась только стандартная терапия. Положительная динамика электронейрофизиологических изменений состояла в том, что имелось значительное уменьшению представительства медленноволновой активности, т.е. снизилась частота и индекс активности патологических тета- и дельта-ритмов; наряду с этим, выявляется рост частоты и индекса активности основного альфа-ритма, появление и развитие фонового бета-ритма.

Список литературы

1. Клаучек С.В., Клиточенко Г.В. Особенности биоэлектрической активности головного мозга детей в возрасте 1-3 лет с различными формами последствий перинатальных поражений ЦНС / Журнал неврологии и психиатрии им. А.А.Корсакова, №4 2006, с 33-38
2. Королева Н.В., Колесников С.И., Воробьев С.В. «Электроэнцефалографический атлас эпилепсий и эпилептических синдромов у детей». ГЭОТАР-Медиа, Москва, 2011, с 135-139.
3. Клиточенко Г.В., Тонконоженко Н.Л. Детская электроэнцефалография: Методическое пособие / Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2011, с 72-77.
4. Вестмореленд Б.Ф., Стокард Дж. «ЭЭГ у младенцев и детей дошкольного возраста». Amer/J/EEG Technol, 1999, с 186-188.
5. Розенбаум П., Панет Н., Левитон Дж., Голдстейн М., Бах М. (2007а). Доклад «Определение и Классификация ДЦП». Приложение к журналу «Развитие Медицины и Детской Неврологии», 49:13-14, апрель 2006, с 2-4.

Наумов Д.Ю.¹, Наумова В.В.²

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ КАРДИОРИТМА В ЮНОШЕСКОМ ВОЗРАСТЕ

¹Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, г. Новокузнецк;

²Доктор медицинских наук, профессор Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний, г. Новокузнецк

HEART RATE VARIABILITY IN YOUNG ADULTS

Naumov Danil, Scientific-research Institute of complex problems of hygiene and occupational diseases, Novokuznetsk
Naumova Vera, Doctor of medical Sciences, Professor, Scientific-research Institute of complex problems of hygiene and occupational diseases, Novokuznetsk

АННОТАЦИЯ

В исследовании приняли участие студенты в возрасте от 17 до 22 лет ($18,9 \pm 0,1$ лет) (102 юноши и 101 девушка).

Исследование проводилось с помощью неинвазивной биоимпедансной технологии «КЕНТАВР» (фирма «Микролюкс», г. Челябинск). Регистрировалось 500 кардиоинтервалов в положении лежа. По окончании записи автоматически проводился спектральный анализ колебаний variability сердечного ритма (BCP) по методике быстрого преобразования Фурье. Оценивались общая мощность колебаний (Trower, в баллах), середина частоты спектра (Fm, в Гц), абсолютные (в баллах) и относительные (в % к Trower) значения мощности колебаний в четырех частотных диапазонах: ультранизкочастотном (UVLF), очень низкочастотном (VLF), низкочастотном (LF) и высокочастотном (HF).

ABSTRACT

The study involved students, aged 17-22 years (18.9 ± 0.1): 102 young males and 101 young females.

Noninvasive bioimpedance technologies "Kentavr" ("Microlux", Chelyabinsk) were employed in our study. Five hundred cardiointervals were recorded in supine position. Power spectral analysis (PSA) of heart rate variability (HRV) according to Fourier fast transformation method was performed following readings registration. We assessed total spectral power (TSP), frequency modulation (Fm) in Hz, absolute and relative values of power oscillation at 4 frequency ranges, i.e. ultra very low-frequency (UVLF), very low-frequency (VLF), low-frequency (LF) and high-frequency (HF).

Ключевые слова: вариабельность сердечного ритма, спектральный анализ, юношеский возраст, гендерные особенности.

Key words: heart rate variability, spectral analysis, young adults, gender specifications.

Введение

Вариабельность сердечного ритма (BCP) является маркером состояния регуляторных процессов в организме, в частности общей активности регуляторных механизмов, нейрогуморальной регуляции сердца, соотношения между симпатическим и парасимпатическим отделами вегетативной нервной системы.

Распространенным методом анализа BCP является спектральный анализ, позволяющий выделить и количественно оценить различные периодические составляющие variability ритма. По значениям мощности колебаний основных спектральных компонент BCP судят о состоянии различных звеньев системы управления физиологическими функциями в организме.

Согласно имеющимся в литературе данным, высокочастотная составляющая спектра BCP (High Frequency – HF, период колебаний около 4,8 с (соответствует длительности дыхательного цикла)) сопряжена с дыханием и отражает влияния парасимпатической системы [4,с.296; 10,с.220-222]. Более дискуссионной представляется природа низкочастотной компоненты (LF – Low Frequency, период колебаний около 10 с), которая, по мнению одних авторов, служит маркером симпатических влияний, по данным других, обеспечивается влиянием не только симпатических, но и парасимпатических механизмов барорефлекторной регуляции [11,с.338-381]. Физиологическая природа очень низкочастотной (Very Low Frequency – VLF) и ультранизкочастотной (Ultra Very Low Frequency – UVLF) составляющих спектра BCP наименее изучена. Имеются данные о связи VLF-колебаний с периодичностью гормональной активности крови [10, с.220-222], с влиянием надсегментарных (в первую очередь гипоталамических) центров вегетативной регуляции [3,с.221; 9,с.48], а UVLF-колебаний с метаболическими процессами.

В последние годы публикуется большое количество работ, посвященных изучению BCP у детей и подростков, включая половозрастные аспекты [1,с.144-145; 2,с.105-109; 6,с.54-58]. В ряде исследований было показано, что в период полового созревания, которое сопровождается изменением гормонального статуса, повышением интенсивности метаболизма и активацией ЦНС, растет мощность колебаний BCP как в диапазоне VLF, так и в диапазоне UVLF [1,с.144-145; 2,с.105-109]. Поскольку у девочек половое созревание начинается раньше, авторы отмечают гендерные различия по данным показателям в возрасте 12-14 лет.

Считается, что на завершающих этапах пубертатного процесса, к началу юношеского возраста основные физиологические системы уже созрели. Од-

нако данные, полученные в последнее время, свидетельствуют, что это далеко не так. В частности, результаты антропометрических измерений указывают на то, что в этом возрасте продолжают изменяться в соотношении различных частей тела (его длины, ширины плеч, ширины тела). Эти преобразования тесно связаны с изменениями гормонального фона. В юношеском возрасте устанавливаются новые взаимоотношения между отдельными звеньями эндокринной системы, обеспечивающие совершенствование регуляторных процессов и их экономизацию [5, с.416]. Работ по изучению волновой структуры ВСР у юношей и девушек на данном этапе онтогенеза недостаточно, что послужило поводом для настоящего исследования.

1. Методика исследования

Обследовано 203 практически здоровых студентов в возрасте от 17 до 22 лет ($18,9 \pm 0,1$ лет), из них 102 юноши ($19,2 \pm 0,2$ лет) и 101 девушка ($18,8 \pm 0,1$ лет).

Исследование кровообращения проводилось с помощью неинвазивной биоимпедансной технологии «КЕНТАВР» (фирма «Микролюкс», г. Челябинск). Регистрировалось 500 кардиоинтервалов (в течение 5-10 мин.) в положении лежа, в покое при произвольном дыхании.

После окончания записи у каждого исследуемого автоматически рассчитывались математическое ожидание (M , уд./мин.) и дисперсия (S , уд./мин.) частоты сердечных сокращений (ЧСС) за 500 ударов сердца, проводился спектральный анализ колебаний variability кардиоритма по методике быстрого преобразования Фурье. Оценивались общая мощность колебаний ($Tpower$, в баллах (1 балл – (уд./мин.)/Гц)), середина частоты спектра (Fm , в Гц), абсолютные (в баллах) и относительные значения (в % к $Tpower$) мощности колебаний в четырех частотных диапазонах: ультранизкочастотном (UVLF с границами от 0 до 0,025 Гц), очень низкочастотном (VLF – от 0,025 до 0,075 Гц), низкочастотном (LF – от 0,075 до 0,15 Гц) и высокочастотном (HF – от 0,15 до 0,5 Гц).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета статистического анализа Stat Soft Statistica v6.0. Использовались следующие статистические методы: тест Колмогорова-Смирнова, U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

2. Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов исследуемых показал наличие широкого разброса между минимальными и максимальными значениями спектральных характеристик ВСР. Так, $Tpower$ варьировала от 5,87 до 1334,06 балла, UVLFpower – от 0,12 до 168,86 балла, VLFpower – от 1,07 до 250,15 балла, LFpower – от 0,93 до 642,23 балла, HFpower – от 1,66 до 741,46 балла. Распределение данных параметров в выборке

исследуемых имело выраженную левостороннюю асимметрию, т. е. чаще встречались более низкие. Сравнение средних значений и медиан общей мощности колебаний и абсолютных величин мощности колебаний в четырех частотных диапазонах спектра ВСР показало, что из-за асимметричности распределений средние значения превышали медианы в 2-2,5 раза.

Поскольку распределение большинства параметров ВСР достоверно отличалось от теоретического нормального распределения ($p < 0,001$), для описания данных в качестве обобщающих характеристик были выбраны медиана и квартили (или 25, 75 перцентили).

Медиана M в выборке исследуемых юношеского возраста составила 70,00 уд./мин. (62,00-75,00 уд./мин.), S – 6,00 уд./мин. (4,00-9,00 уд./мин.), $Tpower$ – 65,49 балла (35,44-170,03 балла), Fm – 0,13 Гц (0,10-0,15 Гц), UVLFpower – 3,03 балла (1,46-6,68 балла), VLFpower – 12,37 балла (5,87-20,13 балла), LFpower – 23,00 балла (10,56-58,67 балла), HFpower – 29,11 балла (11,64-81,41 балла), относительные значения мощности колебаний в соответствующих частотных диапазонах составили 4% (2-7%), 16% (11-22%), 34% (27-42%) и 43% (32-52%).

В целом отмечена тенденция в виде увеличения мощности колебаний от ультранизкочастотной составляющей спектра к высокочастотной.

Доминирование в спектре ВСР высокочастотных колебаний указывает на преобладание парасимпатических влияний на сердце в состоянии покоя. Роль тонуса блуждающих нервов состоит в создании в сердце значительных резервов, которые используются организмом в ситуациях, сопровождающихся повышенной сердечной деятельностью [7, с.1088]. Умеренное преобладание парасимпатических влияний является одним из факторов индивидуальной устойчивости здорового организма к возникновению поражений сердечно-сосудистой системы в условиях эмоционального напряжения [10, с.220-222].

Так, у 66% исследуемых обнаружено превалирование HF-колебаний в спектре ВСР, у 28% – LF-колебаний и у 6% – VLF-составляющей. Доминирование UVLF-колебаний в спектре кардиоритма не наблюдалось.

Выявлены гендерные особенности спектральных показателей ВСР (таблица 1). Так, у девушек обнаружены более высокие значения Fm , HFpower, %HFpower, а у юношей %VLFpower. У девушек отмечена тенденция к более высоким значениям S ($p < 0,06$), $Tpower$ ($p = 0,07$) и более низким значениям %UVLFpower ($p = 0,06$).

Таким образом, у девушек вклад парасимпатического контура регуляции выше по сравнению с юношами, о чем свидетельствуют более высокие значения точки середины частоты спектра, а также относительные и абсолютные значения высокочастот-

ной составляющей спектра ВРС. У юношей относительно выше вклад гуморально-метаболического контура регуляции, на что указывает более высокий по сравнению с девушками процент мощности колебаний в диапазоне очень низких частот и отмеченная тенденция к росту спектральной доли ультранизко-

частотной составляющей. Следует отметить, что абсолютные величины мощности VLF-колебаний в группах, выделенных с учетом половой принадлежности, достоверно не отличались. Увеличение спектральной доли очень низкочастотной периодики в группе юношей произошло за счет снижения мощности высокочастотных колебаний.

Таблица 1

**Статистические и спектральные показатели ВРС у юношей и девушек
(медиана (25-й, 75-й перцентили))**

Показатели	Юноши	Девушки
M	70,00 (61,00-76,00)	70,00 (64,00-74,00)
S	5,50 (4,00-8,00)	7,00 (5,00-10,00)
Tpower	59,27 (29,24-136,22)	95,88 (43,52-185,52)
Fm*	0,12 (0,09-0,14)	0,14 (0,11-0,17)
UVLFpower	3,29 (1,39-7,12)	2,72 (1,59-5,03)
VLFpower	9,88 (5,35-19,81)	13,4 (6,92-23,56)
LFpower	17,82 (8,64-50,35)	33,69 (14,66-65,83)
HFpower *	21,30 (10,12-52,12)	43,51 (17,05-97,08)
%UVLFpower	5 (3-9)	3 (2-7)
%VLFpower *	18 (14-27)	14 (9-21)
%LFpower	34 (27-42)	33 (27-40)
%HFpower *	39 (26-47)	48 (37-55)

* – достоверные различия показателей между группами ($p < 0,05$)

В группе юношей доминирование HF-колебаний выявлено в 58% случаев, LF-колебаний – в 33% случаев и VLF-составляющей – в 9% случаев. В группе девушек ведущая HF-составляющая обнаружена у 75%, LF-составляющая – у 22%, VLF-колебания доминировали у 3% девушек. Таким образом, у юношей по сравнению с девушками реже встречается доминирование в спектре кардиоритма высокочастотных колебаний и чаще – низкочастотных и очень низкочастотных колебаний.

Заключение

Показатели variability ритма сердца (ВРС) у практически здоровых лиц юношеского возраста имеют широкий диапазон индивидуальных колебаний.

У большинства исследуемых – 66% отмечено преобладание в спектре ВРС HF-колебаний, у 28% доминируют LF-колебания и у 6% – VLF-периодика.

Выявлены гендерные особенности спектральных показателей ВРС: у девушек по сравнению с юношами выше значения середины частоты спектра (Fm), а также абсолютные и относительные значения мощности HF-колебаний, у юношей выше спектральная доля мощности VLF-составляющей. При оценке индивидуальных профилей спектра ВРС, выделенных на основе ведущей частоты колебаний, у юношей реже отмечается преобладание HF-колебаний и чаще LF- и VLF-колебаний по сравнению с девушками.

Проведена оценка профилей спектра в группах, выделенных по половому признаку (рисунок 1).

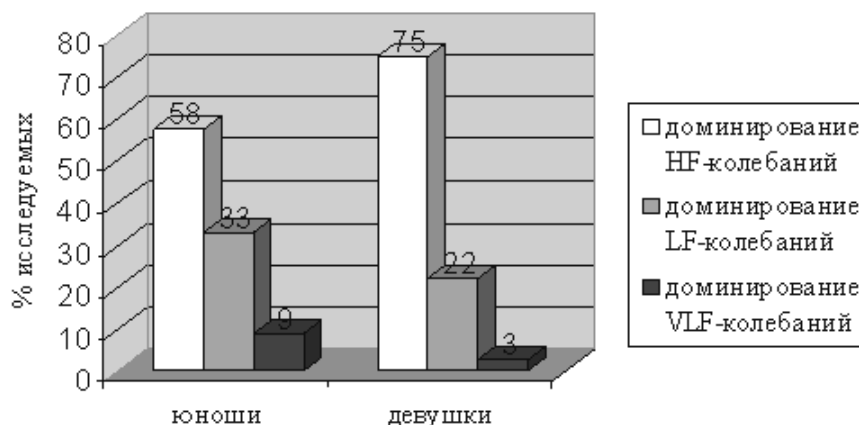


Рисунок 1. Распределение юношей и девушек в зависимости от ведущей составляющей спектра ВРС

Список литературы

- Атаманов В.В., Чечельницкая С.М., Чиркова О.Ю. и др. Возрастная динамика показателей вариабельности ритма сердца (РС) у здоровых мальчиков и девочек // Компьютерная электрокардиография на рубеже столетий: сб. материалов Междунар. Симпозиума, 27-30 апреля 1999 г., Москва. М., 1999. С. 144-145.
- Баевский Р.М., Берсенев Е.Ю., Берсенева И.А. Медленные волны сердечного ритма как индикатор возрастного развития детей и подростков // Медленные колебательные процессы в организме человека. Теоретические и прикладные аспекты нелинейной динамики в физиологии и медицине: сб. материалов III Симпозиума и Школы, 21-25 мая 2001 г., Новокузнецк. Новокузнецк.: Изд. НИИ КПП ПЗ СО РАМН, 2001. С. 105-109.
- Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. М.: Наука, 1984. 221 с.
- Баевский Р.М. Прогнозирование состояния на грани нормы и патологии / М., 1979. 296 с.
- Безруких М.М., Сонькин В.Д., Фарбер Д.А. Возрастная физиология: (Физиология развития ребенка): Учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений. М.: Издательский центр «Академия», 2002. 416 с.
- Галеев А.Р., Игишева Л.Н., Казин Э.М. Вариабельность сердечного ритма у здоровых детей в возрасте 6-16 лет // Физиология человека. 2002. Т.28, № 4. С. 54-58.
- Ноздрачев А.Д., Баженов Ю.И., Баранникова И.А. и др. Начала физиологии: Учебник для вузов. 3-е изд., стер. СПб.: Издательство «Лань», 2004. 1088 с.
- Судаков К.В. (ред.) Функциональные системы организма / К.В. Судаков. М.: Медицина, 1987. 432 с.
- Хаспекова Н.Б. Регуляция вариабельности ритма сердца у здоровых и больных с психогенной и органической патологией мозга: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1996. 48 с.
- Akselrod S.D., Gordon D., Ubel F.A. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control / Science, 1981. Vol. 213, N 4503. P. 220-222.
- Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology (Membership of the Task Force listed in the Appendix // Eur. Heart J., 1996. Vol. 17. P. 334-381.

Солин А.В.¹, Ляшев Ю.Д.², Сериков В.С.³

ВЛИЯНИЕ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ И МЕЛАТОНИНА НА ПРОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У ЖИВОТНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ХРОНИЧЕСКИЙ СТРЕСС

¹кандидат медицинских наук, Курский государственный медицинский университет, г. Курск;

²доктор медицинских наук, профессор, Курский государственный медицинский университет, г. Курск,

³Курский государственный медицинский университет, г. Курск

INFLUENCE OF OPIOID PEPTIDES AND MELATONIN ON PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE AFTER CHRONIC STRESS

Solin Alexey V., Candidate of science, Kursk State Medical University, Kursk,

Lyashev Yuri D., Doctor of science, professor, Kursk State Medical University, Kursk,

Serikov Vadim S., Kursk State Medical University, Kursk,

АННОТАЦИЯ

В работе установлено, что моделирование хронического стресса вызывает повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов в ткани печени и снижение активности антиоксидантных ферментов. Применение опиоидных пептидов или мелатонина оказывает антиоксидантный эффект, подавляя перекисное окисление и повышая активность супероксиддисмутазы и каталазы. Среди исследованных опиоидов наибольшую активность проявлял динорфин А (1-13).

ABSTRACT

It has been established the modeling of chronic stress causes the increase of the content of lipid peroxidation metabolites in liver tissue and the decrease of antioxidant enzymes activity. The administration of opioid peptides or melatonin causes antioxidant effect, which manifests itself by the decrease of lipid peroxidation and the increase of superoxiddismutase and catalase activity. Dinorphin A (1-13) was the most active substance among opioid peptides.

Ключевые слова: хронический стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты.

Keywords: chronic stress, lipid peroxidation, antioxidant enzymes.

Стресс является одной из наиболее актуальных проблем современности. Формирование стойких отрицательных эмоциональных состояний при стрессорных воздействиях связано с продолжительной циркуляцией возбуждения по лимбико-ретикулярным структурам мозга [13,с.64]. Длительное влияние стрессорного фактора вызывает активацию комплекса повреждающих механизмов, в первую очередь перекисного окисления липидов (ПОЛ), и развитие соматовегетативных нарушений. Мишенями такого негативного воздействия являются различные органы, в том числе и печень.

В настоящее время общепризнано, что опиоидные пептиды (ОП) и мелатонин проявляет выраженные антиоксидантные свойства [6,с.58, 16,с.447]. Показана их высокая эффективность при предупреждении свободнорадикального повреждения органов и тканей организма при ишемическом и реперфузионном повреждении [6,с.125, 17,с.17], при действии ионизирующей радиации [15,с.254]. В то же время особенности действия ОП и мелатонина на состояние ПОЛ в организме в условиях длительного стресса остаются малоизученными.

Целью исследования являлся сравнительный анализ влияния селективных агонистов различных типов опиоидных рецепторов (ОР) и мелатонина на процессы ПОЛ при длительном воздействии стрессорного фактора.

Методы.

Работа выполнена на 64 крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Животные были разделены на 8 групп по 8 крыс в каждой. 8 животных оставались интактными, остальным моделировали хронический стресс. В качестве модели использовали стресс ограничения движения, который воспроизводили, помещая животных ежедневно в течение 12 дней на 6 часов в камеры малого объема, ограничивающие их подвижность, без доступа к пище и воде [9,с.637]. При выбранной модели стресса имеет место сочетанное воздействие как эмоционально-негативного компонента, так и непосредственно иммобилизации. Животных выводили из эксперимента на 12 сутки.

Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986).

О состоянии процессов ПОЛ судили по содержанию в плазме крови и гомогенате ткани печени промежуточных и конечных продуктов этих реакций: ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА), а также активности ферментов антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы и каталазы, которые оценивали традиционными методами [2,с.24, 5,с.17, 8,с.48].

В работе использован мелатонин (Sigma-Aldrich, США). Препарат вводили внутривентриально в дозах 0,2 мг/кг или 1 мг/кг в 1% растворе этанола ежедневно 1 раз в сутки в вечернее время в течение 7 дней эксперимента в объеме 0,2 мл. Доза 1 мг/кг выбрана на основании данных литературы о высокой активности мелатонина в этой дозе [10,с.72]. Эффекты препарата в дозе 0,2 мг/кг исследованы для оценки влияния низких доз мелатонина на процессы ПОЛ. Контрольным животным аналогично вводили 1% раствор этанола.

В работе исследовано влияние селективных агонистов ОР в эквимолярных дозах: DAGO (Тир-Д-Ала-Гли-N-Метил-Фен-Гли-ол) (агонист мю-рецепторов) в дозе 6,3 мкг/кг, DSLET (Тир-Д-Сер-Гли-Фен-Лей-Трп) (агонист дельта-рецепторов) в дозе 10 мкг/кг, динорфин А (1-13) (агонист каппа-рецепторов) в дозе 20,1 мкг/кг [6,с.128]. Пептиды вводили внутривентриально ежедневно 1 раз в сутки в течение 7 дней эксперимента в объеме 0,2 мл. Контрольным животным аналогично вводили физраствор.

Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t-критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров.

Результат.

В наших экспериментах установлено, что развитие длительного стресса у крыс сопровождается повышением содержания конечного и промежуточ-

ного продуктов ПОЛ: МДА и АГП, а также уменьшением активности ферментов антиоксидантной системы: СОД и каталазы, в ткани печени. Применение селективных агонистов различных классов ОР снижало степень активации ПОЛ, что проявлялось уменьшением концентрации МДА и АГП в исследуемой ткани. Наиболее выраженное антиоксидантное действие в ткани печени проявлял селективный агонист опиоидных каппа-рецепторов динорфин А (1-13). Показано, что этот пептид вызывает уменьшение содержания МДА и АГП ($p < 0,01-0,001$), а также вызывает повышение активности СОД ($p < 0,001$) и каталазы ($p < 0,05$), причем последний показатель не отличался достоверно от аналогичного у интактных крыс ($p > 0,05$).

И DSLET, и DAGO вызывали уменьшение содержания продуктов ПОЛ в ткани печени (DAGO только МДА), однако не оказывали влияния на активность и СОД, и каталазы.

Внутрибрюшинное введение мелатонина в течение 7 дней в обеих дозах вызывает снижение содержания продуктов ПОЛ в ткани печени крыс, подвергавшихся повторяющимся воздействиям стрессорного фактора. Также применение препарата в обеих дозах вызывало повышение активности СОД и каталазы по сравнению с контрольными животными.

В работе установлено, что применение мелатонина в дозе 1 мг/кг оказывает более выраженное влияние на снижение содержания продуктов ПОЛ и повышение активности антиоксидантных ферментов по сравнению с его использованием в дозе 0,2 мг/кг при хроническом стрессорном воздействии.

Полученные нами результаты подтверждают данные литературы об активации ПОЛ при различных видах стресса [1, с.564]. Ранее показано, что при продолжительной иммобилизации наблюдается угнетение активности СОД и каталазы [4, с.643], что обусловлено их ингибированием при накоплении МДА и АГП. При этом низкий уровень активности каталазы, нейтрализующей перекись водорода, на фоне высокого содержания МДА усиливает токсическое действие ПОЛ [3, с.59].

Использованные в работе препараты, как показано ранее, не проникают через гемато-энцефалический барьер при периферическом введении в применяемых дозах [7, с.74, 10, с.26], а, следовательно, установленное в работе их антиоксидантное действие связано с периферическими эффектами. В настоящее время показана способность ОП и мелатонина повышать активность ведущих периферических стресс-лимитирующих механизмов: системы простагландинов, аденозина, оксида азота, антиоксидантов, белков семейства HSP70, которые ограничивают стресс-реакцию на уровне органов и клеток [10, с.69, 12, с.59].

Высокая антиоксидантная активность динорфина А (1-13) в ткани печени объясняется, по-видимому, значительным присутствием в этом органе

каппа-рецепторов, а также особенностями метаболизма ОП под влиянием специфических и неспецифических пептидаз [11, с.282]. Обращает на себя внимание высокая активность каталазы у животных, получавших динорфин А (1-13), поскольку предупреждение избыточного образования перекиси водорода значительно снижает токсическое действие активации ПОЛ. Высокая активность СОД в ткани печени при применении динорфина А (1-13) связана с относительно низким содержанием МДА, а, следовательно, и уменьшением его токсического влияния на фермент.

Результаты нашего исследования подтверждают наличие у мелатонина выраженного антиоксидантного эффекта. Подобное действие гормона объясняют его способностью связывать свободные радикалы [16, с.446], стимулирующим влиянием на антиоксидантные ферменты [18, с.8], потенцированием эффектов других антиоксидантов организма [14, с.1397].

Вывод: Динорфин А (1-13) и мелатонин проявляют высокую антиоксидантную активность и предупреждают стресс-индуцированные повреждения печени.

Список литературы.

1. Дубинина Е.Е. 2001. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопр. мед. химии.* 47 (6): 561-581.
2. Заводская И.С., Сапронов Н.С., Бульон В.В., Хныченко Л.К. 1998. Экспериментальное обоснование фармакотерапии сердечно-сосудистой и гастродуоденальной патологии, вызванной экстремальными воздействиями на организм. *Вестн. РАМН.* (1): 23-26.
3. Зборовская И.А., Банникова М.В. 1995. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме, клинические аспекты. *Вестн. РАМН.* (6): 53-60.
4. Зорькина А.В., Инчина В.И., Костин Я.В. 1997. Антиоксидантное действие цитохрома С в условиях пролонгированного иммобилизационного стресса. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 123 (6): 642-644.
5. Королюк, М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. 1988. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело.* (1): 16-19.
6. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. 1994. Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца. *Томск. Изд-во Томского университета.* 352с.
7. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Райс К. 2002. Проницаемость гемато-энцефалического барьера для лигандов опиоидных рецепторов. *Эксперим. и клин. фармакология.* 65 (4): 71-77.

8. Макаренко Е.В. 1988. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах больных с хроническими заболеваниями печени. Лаб. дело. (11): 48-50.
9. Непорада К.К., Леонтьева Ф.С., Тарасенко Л.М. 2003. Хронический стресс нарушает структурную организацию органического матрикса костной ткани пародонта. Бюл. экспер. биол. и мед. 135 (6): 637-638.
10. Перцов С.С. 2011. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса. М. Изд-во РАМН.
11. Панченко Л.Ф., Митюшина Н.В., Фирстова Н.В., Генгин М.Т. 1999. Метаболизм энкефалинов при различных функциональных и патологических состояниях организма. Вопр. мед. химии. 45 (4): 277-288.
12. Пшенникова М.Г. 2003. Врожденная эффективность стресс-лимитирующих систем, как фактор устойчивости к стрессорным повреждениям. Успехи физиол. наук. 34 (3): 55-67.
13. Судаков К.В. 1997. Новые акценты классической концепции стресса. Бюл. эксперим. биол. и мед. 123 (2): 124-130.
14. Gitto E., Tan D.X., Reiter R.J., Karbownik M., Manchester L.C., Cuzzocrea S., Fulia F., Barberi I. 2001. Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione, and desferroxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. J. Pharm. Pharmacol. 53: 1393-1401.
15. Koc M., Taipei S., Buyukokuroglu M.E., Balkan N. 2003. The effect of melatonin against oxidative damage during total-body irradiation in rats. Radiat. Res. 160 (3): 251-255.
16. Reiter R.J., Tan D.X., Osuna C., Gitto E. 2000. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: a review J. Biomed. Sci. 7 (5): 444-458.
17. Reiter R.J., Tan D.X. 2003. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemia/reperfused heart. Cardiovasc. Res. 58 (1): 10-19.
18. Rodriguez C., Mayo J.C., Sainz R.M., Antolin I., Herrera F., Martin V., Reiter R.J. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. Jour. Pineal Res. 36 (1): 1-9.

КЛЕТочНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

Азизова Ф.¹, Ботиралиева Г.², Турдиева Г.³

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОСТНАТАЛЬНОГО СТАНОВЛЕНИЯ ОРГАНОВ ИММУНОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ МАТЕРИ

¹доктор медицинских наук, доцент, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

²магистр кафедры гистологии и медицинской биологии, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

³магистр кафедры гистологии и медицинской биологии, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF THE POSTNATAL FORMATION OF IMMUNOGENESIS AT THE CONDITIONS OF TOXIC EXPOSURE THROUGH MATERNAL ORGANISM

Azizova Feruza, Doctor of medicine, assistant professor, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Botiralieva Gulrukh, Master degree student at the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Turdiyeva Guzal, Master degree student at the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

РЕФЕРАТ

У потомства, рожденного в условиях токсического воздействия временные параметры формирования структурно-функциональных зон, особенно тимус зависимых зон периферических органов иммунной системы значительно отстают от контроля. В T-зависимых зонах селезенки и мезентериальных лимфатических узлов выявляется существенное уменьшение процессов клеточной пролиферации при одновременном повышении степени деструкции клеток, что свидетельствует о нарушениях в T-системе иммуногенеза.

Ключевые слова: селезенка, лимфатические узлы, токсическое воздействие, постнатальный онтогенез.

ABSTRACT

Toxic exposure through maternal organism leads to stunted growth and disturbance on formation of immune system of offspring. Especially, T- dependent areas of lymphoid tissue in spleen and lymph nodes are slowed in developing and significantly violated. The research work point out dysplasia of the lymphoid tissue caused by the reduction of cell proliferation whereas, it is apparent to note, that their apoptosis and destruction are increase.

Keywords: spleen, lymph nodes, toxic exposure, postnatal ontogenesis.

Профилактика, своевременное прогнозирование, распознавание и лечение перинатальных заболеваний, и тем самым, снижение уровня перинатальной

смертности является одной из актуальных задач современной медицины. Причины, приводящие к нарушению течения естественных процессов развития и становления органов и систем в эмбриональном и постнатальном периодах, весьма многочисленны и разнообразны. Среди них, наряду с бактериальными и вирусными инфекциями, особое место занимают токсические поражения внутренних органов. Прежде всего, они обуславливаются широким и бесконтрольным применением различных ядохимикатов в сельском хозяйстве, промышленности и быту, неправильным использованием различных лекарственных препаратов и т.д. [1, 2 с., 2, 2 с. 6, 2 с.]. К настоящему времени накоплено огромное число данных по изучению влияния различных экотоксических факторов (пестициды, сельскохозяйственные, бытовые и промышленные отходы, загрязняющие экологическую среду) на организм половозрелых животных и человека [2, 2 с., 3, 2 с., 4, 2 с., 6, 2 с.]. Вместе с тем, изучение токсического влияния различных факторов окружающей среды для развивающейся иммунной системы находится только лишь на стадии предварительных исследований [5, 3 с., 7, 3 с.]. Работы, посвященные постнатальному росту и развитию органов иммунной системы у потомства, полученного от матерей с хроническими токсическими поражениями организма, практически отсутствуют.

Целью работы явилось выявление структурно-функциональных особенностей постнатального развития и становления периферических органов иммунной системы у потомства, полученного в условиях хронического токсического воздействия на организм матери.

У половозрелых, нерожавших крыс-самок хроническую интоксикацию воспроизводили путем

еженедельных инъекций гелиотрина в течение 6 недель. Далее эти самки оплодотворялись здоровыми самцами. Полученное потомство на 3, 7, 14, 21 и 30-сутки после рождения использовалось как опытная группа. Контрольной группой служило потомство крыс в аналогичные же сроки после рождения, только полученное от здоровых родителей. Селезенка, мезентериальные лимфатические узлы (МЛУ) как опытной, так и контрольной групп, в указанные сроки постнатального онтогенеза исследовались с помощью морфологических, морфометрических и электронно-микроскопических методов.

Прежде всего, следует отметить, что хроническое токсическое воздействие на организм матери оказало существенное отрицательное влияние на фертильную способность и течение беременности у крыс-самок. В контрольной группе у всех животных (100%) наступила беременность, которая благополучно завершилась родами. В опытной группе беременность наступила лишь у 84% животных, которая завершилась родами в 64%, выкидышами – в 8%, и смертью в период беременности – в 12% случаях. Среднее количество новорожденных крыс от одной матери в контрольной группе составляло $9,7 \pm 0,5$, тогда как в опытной группе оно было снижено до $6,3 \pm 0,6$ крыс. Токсическое воздействие на организм матери способствовало значительному увеличению степени постнатальной смертности потомства. Она составляла 39,6% от всех новорожденных, тогда как в контрольной группе этот показатель равнялась всего 6,2%. Максимальное число постнатальной гибели потомства (28,7%) в опытной группе имело место на 1-7 сутки после рождения, тогда как в эти же сроки постнатальная смертность крыс контрольной группы составляла всего 5,4% от всех новорожденных.

Результаты морфологических исследований показали, что нарушение постнатального роста и становления органов иммунной системы потомства, полученного от матерей с токсическим воздействием, играет немаловажную роль в патогенезе постнатальной смертности. Нами выявлено, что в опытной группе новорожденных крыс темпы формирования структурно-функциональных зон периферических органов иммунной системы существенно замедлены по сравнению с контрольной группой. В ранние сроки (3-7 сутки) постнатального онтогенеза морфологически в селезенке отмечается развитие выраженных микроциркуляторных изменений в виде расширения и полнокровия венозных сосудов. В отличие от контрольной группы крысят сформированная белая пульпа отсутствует. На фоне множественных очагов эритроцито- и гранулоцитопоза выявляются единичные островки лимфоцитопоза. Периадериальные зоны на 14-21 сутки все еще характеризуются низкой плотностью расположения лимфоидных клеток. До 21-30 суток в лимфоидных клетках сохраня-

ются высокая функциональная активность макрофагов и повышенная степень деструктивных изменений субклеточных органелл в виде набухания митохондрий и лизиса их крист. При подсчете числа пролиферирующих клеток в белой пульпе селезенки установлено достоверное снижение их средних значений по все сроки исследования. В то же время количество деструктивных клеток, преимущественно лимфоцитов и лимфобластов в 1,6-1,8 раза превышало показатели контроля ($P < 0,05$). При сравнительном анализе установлено, что наибольшая степень деструкции клеток, также как и низкая пролиферативная их активность, обнаружены в периадериальной (тимус-зависимой) зоне белой пульпы селезенки.

Морфологические и морфометрические изменения в лимфатических узлах, наблюдаемые у потомства опытной группы, в целом носили однотипный с изменениями в селезенке характер. Формирование структурно-функциональных зон МЛУ происходит на 7-10 дней позднее по сравнению с контролем. Электронно-микроскопические исследования свидетельствуют, что на протяжении всего опыта сохраняются высокая функциональная активность макрофагов и повышенная степень деструктивных изменений субклеточных органелл лимфоидных клеток. Морфометрические исследования лимфатических узлов также показали существенное снижение темпов роста и становления органа у потомства, полученного в условиях хронической интоксикации организма матери. Также как и в селезенке, в МЛУ установлено существенное снижение темпов формирования структурно-функциональных зон органа. Абсолютная площадь лимфатических фолликулов в МЛУ на 21-сутки постнатального развития оставалась 1,5 раза меньшей по сравнению с контролем. Морфометрический анализ соотношений различных структурно-функциональных зон МЛУ показал, что в условиях токсического воздействия на организм матери в наибольшей степени страдает формирование тимус-зависимых (корковое плато и парафолликулярная зона) зон. При подсчете числа пролиферирующих клеток в тимус-зависимых зонах мезентериальных лимфатических узлов установлено достоверное снижение их средних значений во все сроки исследования. В то же время количество деструктивных клеток, преимущественно лимфоцитов и лимфобластов в Т-зависимых зонах органа достоверно превышало показатели контроля на всем протяжении опытов.

Таким образом, токсическое воздействие на организм матери приводит к нарушению естественных процессов постнатального становления и развития органов иммунной системы у их потомства. У крыс, рожденных от матерей с хронической интоксикацией наблюдается отставание темпов формирования иммунокомпетентных структурно-функциональных зон, скорее всего, связанные с дисбалансом

между процессами клеточной пролиферации и дифференцировки. При этом как в селезенке, так и в лимфатических узлах в значительной степени нарушается формирование тимусзависимых зон органов, что является одной из возможных причин развития вторичного иммунодефицита в раннем постнатальном онтогенезе.

Список литературы

1. Елаева Э.Б., Григоренко Д.Е., Жамсаранова С.Д. 2002. Цитоконструкция групповых лимфатических узелков тонкой кишки при воздействии тиреостатиком мерказолилом. Морфология. (2-3): 50.
2. Каххаров З.А., Убайдуллаева Р.Л. 1993. Морфологическое исследование лимфоидных образований кишечника при воздействии пестицидов. I съезд морфологов Узбекистана (Ташкент): 167-168.
3. Сапин М.Р., Лебедева С.Н., Жамсаранова С.Д. 2003. Сравнительный анализ нарушений лимфоидной ткани двенадцатиперстной кишки у мышей при действии азатиоприна и гербицида 2,4-дихорфеноксиуксусной кислоты и их коррекция средствами растительного и животного происхождения. Морфология. (4): 70-73.
4. Corsini E., Liesivuori J., Vergieva T. 2008. Effects of pesticide exposure on the human immune system. Hum Exp Toxicol. (27, 9): 671-680.
5. Dietert R.R. 2009. Developmental immunotoxicity (DIT), postnatal immune dysfunction and childhood leukemia. Blood Cells Mol Dis. (42, 2): 108-112.
6. Galloway T., Handy R. 2003. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. Ecotoxicology. (12, 1-): 345-363.
7. Holsapple M.P. 2003. Developmental immunotoxicity testing: a review. Toxicology. (185, 3): 193-203.

Азизова Ф.Х.¹, Атаджанова А.Н.², Ишанджанова С.Х.³

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ТОНКОЙ КИШКИ НА АНТИГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

¹доктор медицинских наук, доцент, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

²старший преподаватель кафедры гистологии и медицинской биологии, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

³ассистент кафедры гистологии и медицинской биологии, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

STRUCTURAL FEATURES OF THE IMMUNE SYSTEM RESPONSE OF THE SMALL INTESTINE TO ANTIGENIC IMPACT IN DIFFERENT PERIODS OF POSTNATAL ONTOGENESIS

Azizova Feruza Khusanovna, doctor of medicine, assistant professor, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Atadjanova Aziza Nigmatullaevna, senior teacher of the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Ishandjanova Surayyo Khabibullaevna, assistant of the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

РЕФЕРАТ

Модель сальмонеллезной инфекции у половозрелых крыс и новорожденных крысят вызывали введением культуры *Salm. Thyphimurium*. Сальмонеллезное воздействие на ранних этапах постнатального онтогенеза ускоряет темпы пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток во всех компонентах иммунной системы тонкой кишки, после чего развивается ответная реакция, направленная на нейтрализацию сальмонеллезного антигена, которая по времени протекает более длительно, чем у взрослых животных.

Ключевые слова: иммунная система тонкой кишки, постнатальный онтогенез, антигенное воздействие
ABSTRACT

The model of Salmonella infection in adult rats and newborn rats induced by exposing Salmonella Thyphimurium culture. The impact of the Salmonella on the early stages of postnatal ontogenesis accelerates the pace of the proliferation and differentiation of immune cells in all components of the immune system of the small intestine, after what develops a response focused on neutralizing antigen of Salmonella, where the duration of time is longer than in adult animals.

Keywords: immune system of the small intestine, postnatal ontogenesis, antigenic exposure.

Иммунная система тонкой кишки (ИСТК) - важнейшая составная часть иммунной системы слизистых оболочек (ИССО) представляет особый интерес. Как и другие системы, сообщаемые с окружающей средой, она в значительной степени подвержена воздействию антигенов [3, 1 с., 4, 1 с., 6, 1 с.], в ответ на которое в ЖКТ развиваются иммунологические реакции. Так, известно, что у детей первого года

жизни имеет место снижение общего и местного иммунитета. При этом степень развития иммунной системы кишечника определяет выживаемость. Однако, закономерности становления ИСТК в ранние периоды постнатального онтогенеза, взаимосвязь ее отдельных компонентов при физиологических и патологических состояниях, структурные основы реакции ИСТК на антигенные воздействия и ее особенности в отдельные возрастные периоды изучены недостаточно [1, 1 с., 2, 1 с., 5, 1 с.].

Целью работы явилось определение морфологических особенностей реакций иммунной системы тонкой кишки на антигенное воздействие в различные сроки постнатального онтогенеза и выявление структурных взаимоотношений между отдельными ее компонентами.

Материал и методы.

Эксперименты проведены на 60 белых беспородных крысах обоего пола различного возраста. У взрослых половозрелых крыс модель сальмонеллезной инфекции воспроизводили по А.А.Вальдману (1955). До начала опытов, животные находились под наблюдением в течение недели. После исключения наличия патогенной микрофлоры в содержимом кишечника крыс заражали сальмонеллами. Опытным животным через специальный зонд в желудок вводили 2 мл молока, а спустя 30-35 мин - смыв суточной агаровой культуры Санкт-Петербургского штамма патогенных сальмонелл № 79 в дозе 2 млрд микробных тел в 2 мл стерильного физиологического раствора. Контрольные животные в том же количестве и последовательности получали молоко и стерильный физиологический раствор. Опытных и контрольных животных забивали путем декапитации под наркозом на 3, 5, 7, 14 и 21 сутки эксперимента. Для изучения влияния антигенного воздействия на постнатальное становление ИСТК новорожденным односуточным крысятам *reg os* однократно вводили свежеприготовленную культуру *Salmonella thyphimurium* в дозе 1 млрд микробных тел в 0,5 мл стерильного физиологического раствора. Контрольным крысам *reg os* вводили 0,5 мл физиологического раствора. Опытных и контрольных животных забивали путем декапитации под эфирным наркозом через 2,6,13,20 и 29 суток после заражения.

Материалом исследования служили слизистая тощей и подвздошной кишки, пейеровы бляшки (ПБ) и мезентериальные лимфатические узлы (МЛУ). Для светоптических исследований ткани тощей и подвздошной кишки, ПБ и МЛУ фиксировали в жидкости Буэна и после соответствующей проводки заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Клеточные элементы собственной пластинки тощей и подвздошной кишки, МЭЛ, клеток структурно-функциональных зон ПБ и МЛУ подсчитывали на полутонких (1 мкм) аралдитовых срезах, окрашенных метиленовым синим-основным фуксином.

Цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием персонального компьютера Pentium IV. Достоверными считали различия, удовлетворяющие $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Результаты исследования показали, что сальмонеллезное воздействие у взрослых животных сопровождается определенной динамикой структурных перестроек на всех уровнях ИСТК. В слизистой оболочке тонкой кишки (СОТК) отмечались умеренный отек и гемоциркуляторные расстройства, сопровождаемые увеличением числа и повышением секреторной активности бокаловидных клеток. Эти изменения достигли своего максимума на 5-7 сутки заражения и в дальнейшем постепенно регрессировали. Одновременно с этим наблюдалась динамика со стороны количества иммунокомпетентных клеток, как эпителиального пласта, так и собственной пластинки слизистой оболочки (СПСО). Количество МЭЛ на 3- и сутки опытов превышало контроль в 1,2-1,8 раза, на 7-е сутки в 2,5-2,6 раза. Количество плазматиков и макрофагов в СПСО было больше контроля в 1,5-2 раза. Характерно, что сальмонеллезное воздействие сопровождалось существенным увеличением числа клеток, ответственных за неспецифические защитные реакции организма. При этом число гранулоцитов превышало контрольные значения на 50%, тканевых базофилов - на 20%.

Гемомикроциркуляторные расстройства в ПБ были более выраженными, чем на остальных участках СОТК. На 5-7-е сутки эксперимента число МЭЛ купола ПБ было в 2,0-2,4 раза больше контроля. Количество МЭЛ в ПБ увеличивалось в большей степени, чем в других отделах СОТК. Это, вероятно объясняется тем, что эпителий купола ПБ является основным местом получения информации об АГ и следовательно, более доступен для проникновения АГ [4]. В эти сроки также площадь В-зависимых зон (ЛФ) увеличивалась по сравнению с контролем в 1,6-3,2 раза, а площадь Т-зависимых зон достоверно не изменилась. Одновременно в Т- и В-зависимых зонах произошли выраженные изменения соотношения клеток. Так, число различных популяций лимфоцитов по сравнению с контролем увеличилось в 1,5-2,4 раза, а число макрофагов и плазматиков - в 3,0-3,3 раза. В противоположность этому, в Т-зависимой межфолликулярной зоне плотность распределения лимфоидных клеток значительно снизилась, составив всего 54% от контроля. Это снижение произошло в основном за счет различных видов лимфоцитов, которое по сравнению с контролем уменьшилось в 1,3-2,5 раза.

В МЛУ на 5-7-е сутки эксперимента, наряду с выраженными гемомикроциркуляторными нарушениями и явлениями лимфостаза, обнаруживались существенные количественные и качественные изменения, охватывающие все структурно-функциональные зоны органа. В эти сроки площадь В-зависимых

зон (лимфатических фолликулов, мозговых тяжей) увеличивалась в 1,2-2,7 раза, синусов - в 1,8 раза. Напротив, площадь Т-зависимой (паракортикальной) зоны уменьшилась и составляла всего 62% от контроля. Как и в ПБ, в В-зависимых зонах МЛУ число лимфобластов и пролимфоцитов возрастало в 2,1 раза, плазматиков и макрофагов - в 2,3 раза, тогда как количество малых лимфоцитов проявляло тенденцию к уменьшению. В Т-зависимой паракортикальной зоне на фоне умеренного увеличения числа макрофагов и плазматиков отмечалось достоверное уменьшение количества малых и средних лимфоцитов.

Выявленные в наших опытах интенсивная пролиферация клеток В-зависимых зон и усиленное образование плазматических клеток можно объяснить с антигенной структурой сальмонелл. Будучи преимущественно липополисахаридами, они оказывают на В-лимфоциты и макрофаги, прежде всего индуцирующее действие. Активированные макрофаги, расщепляя сальмонеллы, во-первых, обеспечивают передачу информации об их антигенной структуре, во-вторых, активно выделяя цитокины и простагландины, приводят к супрессии Т-клеток. Это, в свою очередь, является одним из факторов, обуславливающих гипоплазию Т-зависимых зон в иммунной системе тонкой кишки, прежде всего в ПБ и МЛУ. В результате снижения супрессорного эффекта Т-лимфоцитов существенно возрастает митогенный эффект сальмонеллезных АГ на пролиферацию клеток В-зависимых зон этих органов, что способствует их выраженной гиперплазии и гипертрофии. Тем не менее, интенсивная стимуляция В-системы иммунитета при экспериментальном сальмонеллезном воздействии сохранялась непродолжительное время. Начиная с 14-х суток опытов количество МЭЛ, плазматических клеток, макрофагов, гранулоцитов в СПСО постепенно уменьшалось. Наблюдалась регрессия площади и количества клеток В-зависимых зон ПБ и МЛУ, хотя пролиферация клеток в этих зонах оставалась повышенной даже на 21-е сутки опытов.

Определенный интерес представляет изучение реакции ИСТК на сальмонеллезное воздействие в ранний период постнатального онтогенеза, когда эта система еще не имеет отчетливо выраженной структурно-функциональной иерархии. Нами выявлено, что заражение новорожденных животных сальмонеллами существенно ускоряет влияние на процессы становления компонентов ИСТК. Тем не менее, в раннем постнатальном онтогенезе животных пик структурных перестроек во всех компонентах ИСТК значительно отстает от такового у взрослых животных и наблюдается лишь на 7-14-е сутки. В этот период, как и у взрослых животных отмечается наибольшая инфильтрация эпителиального пласта МЭЛ, увеличение числа макрофагов, плазматиков, гранулоцитов в СПСО. Характерно, что у растущих

животных сальмонеллезное воздействие значительно усиливает степень деструкции иммунокомпетентных клеток. Сальмонеллезное воздействие приводит к существенному ускорению темпов формирования структурных единиц ПБ и МЛУ. Уже на 7-14-е сутки у зараженных животных определяются достаточно сформированные фолликулы, межфолликулярная зона и зона купола ПБ, а на 14-е сутки появляются отдельные фолликулы с ГЦ. В то же время у контрольных животных эти структуры начинают формироваться лишь на 21-е сутки после рождения. Такое же ускорение темпов формирования структурно-функциональных зон отмечается и в МЛУ. Как и в ПБ, происходит выраженное усиление пролиферации В-зависимых зон с последующей их гиперплазией и гипертрофией. Количественные и качественные изменения иммунокомпетентных и вспомогательных клеток всех компонентов ИСТК в достаточной степени сохранялись и на 21-е сутки сальмонеллезного воздействия. Лишь к 30-м суткам опытов структурные перестройки в ИСТК регрессировали, и все ее параметры существенно не отличались от контроля.

Таким образом, сальмонеллезное воздействие в условиях недостаточного формирования всех компонентов ИСТК, прежде всего, обуславливает ускорение темпов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток с последующим формированием конкретных структурно-функциональных зон, и только после этого развивается ответная реакция, направленная на нейтрализацию и элиминацию сальмонеллезных антигенов из организма.

Выводы:

1. ИСТК в условиях антигенного воздействия функционирует как единая интегрированная система, последовательно обеспечивающая местный иммунный гомеостаз. Структурные перестройки во всех ее компонентах (слизистая оболочка, ПБ, МЛУ) по временным параметрам протекают синхронно.

2. Сальмонеллезное воздействие на ранних этапах постнатального онтогенеза оказывает существенное влияние на процесс становления ИСТК: при этом первоначально ускоряются темпы пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток; только после этого развивается ответная реакция, направленная на нейтрализацию сальмонеллезного антигена, которая по времени протекает более длительно, чем у взрослых животных.

Список литературы

1. Аминова Г. Г. 2008. Возрастная динамика клеток лимфоидных узелков слепой кишки человека. Морфология. (9): 2-10.
2. Григоренко Д. Е. 2006. Динамика межклеточных взаимоотношений в структурных зонах лимфоидной (пейеровой) бляшки человека в онтогенезе. Морфологические ведомости. (3-4): 21-24.

3. Гулямов Н.Г., Юсупова Л.Ю., Нишанова А.А. 2010. Развитие и становление интегративных отношений иммунной системы слизистой оболочки тонкой кишки. *Врач-аспирант*. (39, 2.1): 149-153.
4. Юлдашев А. Ю., Каххаров З. А., Юлдашев М.А. 2008. Функциональная морфология иммунной системы слизистой оболочки тонкой кишки. Ташкент: Янги авлод: 47.
5. Garrett W.S., Gordon J.I. 2010. Homeostasis and inflammation in the intestine. *Cell*. (140, 6): 859-870.
6. Peterson L.W., Artis D. 2014. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature Rev. Immunol.* (14): 141-153.

Хамракулова М.А.¹, Шермуратов А.Р.²

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ И КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ МНОГОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ ОМАЙТ

¹Научно-исследовательский институт санитарии, гигиены и профзаболеваний
Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент

²ассистент кафедры гистологии и медицинской биологии, Ташкентская медицинская академия,
г. Ташкент

STUDY OF SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN THE TISSUES OF THE LIVER AND BLOOD OF WHITE RATS AT REPEATED ADMINISTRATION OMITE

Khamrakulova Mukkadas Askarovna, Research Institute of Sanitation, Hygiene and Occupational Diseases of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

Shermuratov Anwar Rahmonkulovich, assistant of the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

РЕФЕРАТ

В результате исследований выявлены метаболические нарушения при 4 месячном воздействии омайта в дозе 1/20 ЛД₅₀, увеличение активности ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови и это свидетельствует о развитии деструктивных процессов в тканях печени, с нарушением проницаемости клеточных мембран. Установлено увеличение сывороточной активности щелочной фосфатазы на фоне снижения ферментной активности в печени, что свидетельствует о поражении гепато-билиарной системы.

Ключевые слова: печень, кровь, белые крысы.

ABSTRACT

The studies revealed metabolic abnormalities at 4-month exposure at a dose of 1/20 Omite LD₅₀, increased activity of the enzymes AST and ALT in serum and is evidence of the development of destructive processes in the liver, in violation of the permeability of cell membranes. The increase of serum alkaline phosphatase activity against decrease of enzyme activity in the liver, indicating that lesion hepatobiliary system.

Keywords: liver, blood, white rats.

В настоящее время в сельском хозяйстве Узбекистана при борьбе с вредителями и болезнями растений широко применяются пестициды разных групп [4, 1 с.], большинство из которых потенциально опасны для здоровья человека. До настоящего времени не выяснен ряд сложных закономерностей связанных с отравлениями новыми пестицидами [3, 1 с.], их воздействие на организм человека и животных, нет способов и методов активного вмешательства на процессы, происходящие в организме при отравлениях. Данные научных трудов является одним из разделов дальнейшего развития медико-биологических исследований в гигиене, направленных на выяснение ранее неизвестных общих и отличительных закономерностей изменений метаболических и структурно – функциональных реакций организма при гепато – токсикологическом действии химических веществ разной природы [2, 1 с.], в том числе широко распространенных пестицидов, относящихся к различным классам опасности и имеющих различную химическую структуру.

Печень наиболее подвержена вредному воздействию пестицидов. Она является главным органом, осуществляющим метаболизм ядохимикатов и других химических соединений. При интоксикации различными пестицидами, прежде всего, страдает печень, нарушается её разнообразные функции и структуры.

Цель исследований. Изучение органоспецифических ферментов печени при воздействии пестицида омайта в сыворотке крови и гомогенатах печени.

Материалы и методы исследований. Опыты проведены на 44 крысах-самцах массой 140-160г содержавшихся на обычном рационе вивария. Первая

группа животных – контрольная, содержались в оптимальных условиях температуры $22,4 \pm 2,5^\circ\text{C}$, вторые-опытные, животным ежедневно внутривенно вводили пестицид омайта в дозе 1/20 ЛД₅₀ в течение 4-х месяцев. Животных забивали на 30, 60 и 90 день опытов.

В сыворотке крови определяли содержание щелочной фосфатазы [6, 2 с.], амилазы, ферментов АСТ и АЛТ [8, 2 с.], общие липиды [1, 2 с., 7, 2 с.] и триглицериды [5, 2 с.].

Результаты исследования и их обсуждение. Исследования показали, что самым чувствительным показателем интоксикации ядами были сульфгидрильные группы крови. Это объясняется тем, что SH - группы регулируют проницаемость мембран митохондрий, они входят в состав многих ферментов, в значительной степени определяя их активность, а также в механизме радиационных поражений, и при воздействии отравляющих веществ.

Согласно современным данным, важную роль в катаболизме атерогенных липопротеидов (ЛП) играет печень. Здесь происходит окисление и синтез триглицеридов, холестерина, фосфолипидов, образование ацетоновых тел, желчных кислот, ЛПОНП и ЛПВП.

В связи с этим были изучены липидный состав печеночной ткани в сыворотке крови подопытных животных, получавших внутривенно 1/20 ЛД₅₀ дозы омайта. После 1 и 4 месяцев опыта нами определялись фосфолипиды в сыворотке крови и липидные экстракты печени. В сыворотке крови у крыс 1 группы фосфолипиды понизились на 12 и 20% соответственно, в печени оно повысилось на 26%.

При длительном воздействии различных химических соединений в концентрациях, не вызывающих внешне проявляемого эффекта, в организме

подопытных животных выявляются скрытые изменения со стороны ряда физиологических реакций, биохимических показателей, функции отдельных органов и систем. Подтверждающее влияние ксенобиотиков на клеточные структуры проявляется зачастую преимущественно в диокоординации функциональной активности органов и специфических ферментных систем.

Активность некоторых ферментов может изменяться довольно рано и глубоко, поэтому исследование этих показателей можно использовать, очевидно, в качестве ранних диагностических тестов при оценке биологического действия пестицидов.

Воздействие омайта в дозе 1/20 ЛД₅₀ на организм животных приводило к изменению активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови и в тканях печени. В течение 1 месяца эти изменения носили характер тенденции, а после 2 месяцев воздействия препарата в сыворотке крови активность щелочной фосфатазы увеличивалась в 1,25 раза (таблица), а в печени она снизилась на 27%, по сравнению с контрольной. После 3 месяцев введения омайта у подопытных животных активность фермента превышала контрольные данные на 35%, а в печени она составляла 26% по сравнению с контрольной величиной.

В начальные сроки эксперимента значительных изменений активности аспаратаминотрансферазы во всех биосредах не отмечалось. Однако уже после 2 месяцев опыта активность фермента превышает контрольную активность в сыворотке печени. После 3 месяцев эксперимента активность АСТ достигает максимальных величин и превышает контрольные показатели в 1,7 раза, в сыворотке, а в печени в 1,25 раза. Изменение активности аланинаспаратаминотрансаминазы в 1 месяце воздействия 1/20 ЛД₅₀ препарата носит характер тенденции.

Таблица

Изменение некоторых биохимических показателей в сыворотке крови белых крыс при хроническом внутривенном введении омайта

Наименование показателя	Группы животных	Сроки исследований (дни)		
		30 M ± m	60 M ± m	90 M ± m
Щелочная фосфатаза мкмоль/л. сек	Контроль	0,88±0,07	1,07±0,04	1,11±0,04
	Опыт	1,15±0,05	1,55±0,04 ^x	1,93±0,10 ^x
Амилаза мкмоль/л. сек	Контроль	4,77±0,14	4,60±0,06	4,57±0,05
	Опыт	4,74±0,21	4,80±0,15	5,48±0,21
АСТ мкмоль/л. сек	Контроль	0,14±0,005	0,14±0,004	0,015±0,004
	Опыт	0,18±0,01	0,22±0,01 ^x	0,25±0,01 ^x
АЛТ мкмоль/л. сек	Контроль	0,18±0,004	0,14±0,005	0,15±0,01
	Опыт	0,21±0,007	0,23±0,008 ^x	2,24±0,01 ^x
Общие липиды г/л	Контроль	5,53±0,07	5,25±0,10	5,75±0,08
	Опыт	6,21±0,04	0,00±0,42	6,75±0,07
Триглицериды ммоль/л	Контроль	0,71±0,03	0,72±0,03	0,73±0,03
	Опыт	0,76±0,01	0,80±0,015	0,83±0,04

Примечание: достоверность * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

После 2 месяцев затравки у животных наблюдается увеличение активности показателя в сыворотке крови на 60%, в гомогенатах печени на 56%, по сравнению с контрольными данными. В конце опыта активность фермента превышает контрольную в сыворотке крови почти в 1,6 раза, в печени 1,7 раза.

Особое место среди функциональных групп химических соединений занимают сульфгидрильные группы вследствие их высокой реакционной особенности.

Изучение функциональной активности этих групп показало, что после 1 месяца введения ксенобиотика в организм у опытных животных наблюдается тенденция к снижению показателя во всех изучаемых биосредах. После 2 месяцев опыта эта тенденция сохраняется, в тканях печени и крови. После 3 месяцев воздействие омайта уровень сульфгидрильных групп в крови снижен на 30%, в тканях печени на 22%. Изучение показателей липидного обмена носило характер тенденции на протяжении всего срока исследования во всех изучаемых биосредах.

Таким образом, результаты наших исследований показали наличие метаболических нарушений при 4 месячном воздействии омайта в дозе $1/20$ ЛД₅₀. Увеличение активности ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови, свидетельствует о развитии деструктивных процессов в тканях печени, с нарушением проницаемости клеточных мембран. Увеличение сывороточной активности щелочной фосфатазы на фоне снижения ферментной активности в печени свидетельствует как о поражении гепато-билиарной системы. Ингибирование активности ферментов во всех изучаемых биосредах можно объяснить влиянием пестицида на функциональную активность центра фермента, а также блокирование сульфгидрильных групп в изучаемых биосредах.

Выводы:

1. При многократном воздействии пестицида омайта на организм белым крысам в дозе $1/20$ ЛД₅₀ в условиях высокой температуры воздуха выявлены

увеличение активности ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови, которое свидетельствует о деструктивных процессах в ткани печени и нарушении проницаемости клеточных мембран.

2. Хроническое воздействие пестицида омайта вызывает увеличение активности щелочной фосфатазы и поражение гепато-билиарной системы.

Список литературы

1. Долгов В.В., Щетникович К.А., Лукичева Т.Н., Прудник И.М. 2000. Методические аспекты определения индивидуальных белков. Москва: РМА-ПО: 88.
2. Клейнер С.И., Слепакова О.Б., Аллаберганова Ф.И. 1983. Механизмы патологических процессов. Вопросы патобиохимии в патогенезе повреждений: 37-46.
3. Клисенко М.А., Горенко Х.Б. 1981. Синтетические пиретроид. Свойства, метаболизм, методы анализа. Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. (12).
4. Курляндский Б.А., Новиков С.М. 1998. О классификации опасности химических канцерогенов. Токсикологический вестник. (1): 2-6.
5. Определение сульфгидрильных групп (SH-групп) по Рубиной Х.Н. и Романчуку. 1961. Количественное определение сульфгидрильных групп цельной крови спектрофотометрическим методом. Вопросы мед. химии (7, 6): 652-655.
6. Определение общих липидов в сыворотке крови (по Блюру в модификации Брагдон). 1969. Биохимический методы исследования в клинике: 287-288.
7. Пасхина Т.Н. 1959. Определение глутамино-аспарагиновой и глутамино-аланиновой аминокислот в сыворотке крови человека. Методическое письмо Института биохимии АМН СССР: 112-115.
8. Badansky A.J. 1933. Определение активности щелочной и кислой фосфатаз в сыворотке крови. Biol. chem. (101, 93) (В кн. Биохимические методы исследований в клинике): 160-162.

Юлдашева М.¹, Азизова Ф.Х.², Тухтаев К.Р.³

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНГИБИРОВАНИИ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ассистент кафедры гистологии и медицинской биологии

Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

²доктор медицинских наук, доцент, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

³доктор медицинских наук, профессор, Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE IMMUNE DISTURBANCES IN EXPERIMENTAL INHIBITING THE FUNCTION OF THE THYROID GLAND

Yuldasheva Mokhigul, assistant of the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Azizova Feruza, doctor of medicine, assistant professor, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Tukhtaev Kadir, doctor of medicine, professor, Tashkent Medical Academy, Tashkent

РЕФЕРАТ

Изучено выявление структурных и морфометрических изменений тимуса и лимфатических узлов у крыс при экспериментальном гипотиреозе, вызванном с помощью кратковременной (транзиторный гипотиреоз) и длительной обработкой мерказолилом (стабильный гипотиреоз). При стабильном гипотиреозе изменения в иммунных органах были выражены сравнительно мало, при длительном - в тимусе выявлена гипоплазия корковой зоны, уменьшение числа митотических клеток и усиление степени деструкции тимоцитов. В лимфатических узлах похожие изменения отмечены в T- зависимых зонах органа.

Ключевые слова: щитовидная железа, гипотиреоз, тимус, лимфатические узлы

ABSTRACT

Studied the identification of structural and morphometric changes in the thymus and lymph nodes of rats with experimental hypothyroidism caused by short-term with the aid of (transient hypothyroidism) and long-term treatment Mercazolilum (stable hypothyroidism). With stable hypothyroidism changes in immune organs were expressed relatively little, long-term - in the thymus revealed hypoplasia of cortical areas, reducing the number of mitotic cells and the increase in the degree of destruction of thymocytes. In the lymph nodes, similar changes observed in T-dependent areas of the body.

Keywords: thyroid gland, hypothyroidism, thymus, lymph nodes

Становление и регуляция тиреоидного обмена являются актуальной проблемой биологии и медицины. Функциональная направленность щитовидной железы (ЩЖ) изменяется под влиянием экологического загрязнения, ухудшения социальных условий и режима питания, усиления стрессорного воздействия, аллергизации и иммунизации населения. В связи с этим, в настоящее время тиреоидная патология становится все более экологически и социально обусловленной. ЩЖ оказывает гормональное влияние на все виды обмена веществ, обуславливая индивидуальный уровень гомеостаза, выполняя роль интегративного звена нейро-иммунно-эндокринной регуляции в физиологических и патологических процессах организма [1, 3 с., 6, 3 с.].

Тесная взаимосвязь между иммунной и эндокринной системами показана в ряде работ [1, 3 с., 6,

3 с., 7, 3 с.]. Установлено, что различные поражения эндокринных органов сопровождаются определенными иммунными сдвигами в организме, и в свою очередь, те или иные иммунные расстройства приводят к нарушениям эндокринных функций организма [3, 3 с.]. В этом плане взаимосвязь щитовидной железы с иммунной системой заслуживает особенного внимания. Клинические наблюдения свидетельствуют, что при поражениях щитовидной железы в организме больных развиваются различные иммунные нарушения, степень выраженности которых зависит от уровня тиреоидных гормонов [4, 3 с., 5, 3 с., 9, 3 с.]. Вместе с тем, морфологические аспекты иммунных нарушений при гипотиреоидных состояниях остаются недостаточно выясненными.

Целью настоящей работы было выяснение морфологических и морфометрических особенностей центральных и периферических органов иммуногенеза при экспериментальном гипотиреозе, вызванном в препубертатном периоде у крыс.

Материал и методы.

Опыты были проведены на крысах-самцах массой тела 70-80 г, что соответствовало препубертатному подростковому периоду развития. Крысы были разделены на три группы. Две группы опытных животных получали вместе с пищей мерказолил в дозе 0,5 мг на 100 г массы тела в течение 14 суток, далее получали в течении месяца поддерживающую дозу мерказолила 0,25 мг на 100 г массы тела. В дальнейшем, опытные группы животных были подразделены на две подгруппы. Первая подгруппа продолжала получать мерказолил в той же дозе до половой зрелости (стабильный или длительный гипотиреоз). Другой подгруппе животных на 40 сутки опытов прекращали давать мерказолил (преходящий или транзиторный гипотиреоз). Эта подгруппа служила для исследования естественного обратного развития гипотиреоза в ювенильном периоде. Контролем служили животные с аналогичной массой тела, получавшие стерильный физиологический раствор. По окончании экспериментов как контрольные, так и опытные животные забивались декапитацией под эфирным наркозом. Определяли массу тимуса и ее отношение к массе тела. Кусочки тимуса и мезентериальных лимфатических узлов фиксировали в растворе Буэна и заливали в парафин. Морфологические особенности органов изучали на срезах толщиной 5-6 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином. Морфометрические исследования проводились с помощью окуляр-микрометра. Все цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики. Для электронно-микроскопических исследований кусочки тимуса и мезентериальных лимфатических узлов фиксировали в 2,5% глутаральдегиде и дофиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия. После обезвоживания кусочки заливали в аралдит. Ультратонкие срезы просматривали под электронным микроскопом JEM-100S.

Результаты исследования.

Анализ полученных данных показал отрицательное влияние экспериментально созданного гипотиреоза в препубертантном периоде на центральные и периферические органы иммуногенеза. Выявлено, что морфологические изменения иммунных органов находятся в прямой зависимости от длительности подавления функции щитовидной железы. Масса, а также индекс массы тимуса в обеих группах опытных животных достоверно снижались по сравнению с контролем. При этом наибольшее уменьшение массы тимуса отмечено в группе крысят со стабильным гипотиреозом. Гипотиреоз приводит к достоверному снижению средней площади дольки. При этом у животных с длительным гипотиреозом этот показатель уменьшается на 14% от контроля. При раздельном исследовании площади различных зон выявлено, что гипотиреоз существенно уменьшает площадь корковой зоны на (22-30% по сравнению с контролем). И напротив, площадь мозговой зоны при гипотиреозе увеличивается на 30-32% сравнительно с контролем. Как транзиторный, так и стабильный гипотиреоз приводит к уменьшению средней плотности расположения клеток в зонах дольки тимуса. При этом плотность клеток в корковой зоне в зависимости от длительности гипотиреоза уменьшается на 7,0-13,7%, а в мозговой зоне - на 8,3-11,4% по сравнению с контролем. Гипотиреоз в зависимости от продолжительности способствует уменьшению пролиферации клеток тимуса и увеличению степени их деструкции. Наибольшее уменьшение митотической активности клеток тимуса наблюдается при стабильном гипотиреозе. Число митозов у этих животных в корковой и мозговой зонах соответственно составляет всего 41 и 53% от контроля. При транзиторном гипотиреозе уменьшение числа митозов не столь выражено, и оно составляет 82-87% от контроля. Уменьшение числа митозов при гипотиреозе сопровождается увеличением количества деструктивных клеток в зонах тимуса. Наибольшее повышение степени деструкции наблюдается в корковой зоне, которая при транзиторном гипотиреозе в 1,77, а при стабильном гипотиреозе - в 2,9 раза превышает показатели контроля. Аналогичным образом, но в несколько меньшей степени, повышается степень деструкции и в мозговой зоне.

Полученные данные показали, что нарушение деятельности щитовидной железы оказывает отрицательное влияние не только на тимус, но и на периферические иммунные органы, в частности на лимфатические узлы. Площади В-зависимых зон мезентериальных лимфатических узлов при транзиторном и стабильном гипотиреозах уменьшаются соответственно на 10% и 16% от контроля ($P < 0,05$). Гипотиреоз привел к резкому снижению площади Т-зависимой паракортикальной зоны органа. Относительная площадь данной зоны при транзиторном

гипотиреозе составляет 82%, а при стабильном гипотиреозе -70% от контроля ($P < 0,05$). Число митозов в Т-зависимой зоне при преходящем длительном гипотиреозах уменьшалось соответственно на 15% и 25% сравнительно с контролем ($P < 0,05$). Отмечалось не достоверное уменьшение числа митотически делящихся клеток в В-зависимых зонах органа. Аналогично при транзиторном и стабильном гипотиреозах число деструктивно измененных клеток в Т-зависимой зоне увеличивалось соответственно на 12% и 23% по сравнению с контролем ($P < 0,05$). А в В-зависимых зонах этот показатель достоверно не отличался от контроля.

Гипотиреоз, и особенно, стабильная его форма сопровождался определенными ультраструктурными изменениями иммунных органов. В тимусе наблюдалась деструкция органелл тимоцитов и ретикулоэпителиальных клеток, образующих тимическое микроокружение, часто выявлялись тимоциты с лизисом цитоплазмы и пикнозом ядер. Макрофаги тимуса увеличивались в размерах, цитоплазма их содержала многочисленные фагоцитированные деструктивные тимоциты. В лимфатических узлах при длительном гипотиреозе также отмечались набухание митохондрий, локальный лизис ядра и цитоплазмы лимфоцитов, в цитоплазме макрофагов обнаруживались многочисленные вторичные лизосомы.

Обсуждение результатов.

Проведенные исследования показали прямую взаимосвязь постнатального роста тимуса с состоянием щитовидной железы. Нами выявлено, что, чем больше продолжительность гипотиреоидного состояния, тем глубже проявляются морфометрические изменения в тимусе. Состояние тимуса в условиях нарушения функции щитовидной железы изучено крайне недостаточно [5,8]. Иммунологические исследования, проведенные у больных с гипотиреозом, свидетельствуют о различных нарушениях в Т-системе иммунитета [2,3,9]. Из наших данных видно, что как транзиторный, так и стабильный гипотиреоз приводит к уменьшению пролиферативной активности тимоцитов, а степень их деструкции внутри тимуса значительно возрастает. Это, в свою очередь, способствует гипоплазии тимуса в виде уменьшения его массы и показателей различных зон долек тимуса. Изменения в иммунных органах при йоддефицитных состояниях не ограничиваются только тимусом. Мы изучали морфологическое состояние периферических иммунных органов, в частности мезентериальных лимфатических узлов, при этом состоянии. Полученные данные показали, что основные изменения в лимфатических узлах наблюдались в Т-зависимых зонах органа. Они проявлялись в уменьшении Т-зависимой паракортикальной зоны, снижении митотической активности и усилении деструкции клеток данной зоны.

Следовательно, для обеспечения естественного постнатального становления и функционирования органов иммуногенеза необходимо наличие нормального уровня гормонов щитовидной железы. Профилактика гипофункции щитовидной железы в детском и подростковом периоде является одним из важных условий для нормального функционирования иммунной системы во взрослом организме.

Выводы:

1. Гипотиреоз в препубертатном периоде приводит к гипоплазии тимуса и Т-зависимых зон лимфатических узлов, к снижению пролиферативных процессов и резкому усилению деструкции клеток, степень которых зависит от длительности гипотиреоидного состояния.
2. Профилактика гипофункции щитовидной железы в детском и подростковом периодах является одним из важных условий для нормального функционирования иммунной системы во взрослом организме.

Список литературы

1. Акмаев И.Г. 1996. Современные представления о взаимодействиях регулирующих систем: нервной, эндокринной и иммунной. Усп. физиол. наук. (27, 1): 3-20.
2. Бендюг Г.Д., Гриневич Ю.А., Храновская Н.Н. и др. 2003. Состояние иммунной системы у тиреоидэктомизированных крыс. Булл. эксп. биол. и мед. (2): 154-157.

3. Болотская Л.А., Марсова Т.П. 2002. Клинико-иммунологическая характеристика больных аутоиммунным тиреоидитом. Иммунология. (23, 3): 175-177.
4. Епишин А.В., Грыцив В.Е. 1989. Изменения в иммунном статусе при первичном гипотиреозе. Проб. эндокринологии. (4): 30-32.
5. Левченко И.А., Фадеев В.В. 2002. Субклинический гипотиреоз. Проб. эндокринологии. (48, 2): 13-21.
6. Морфофункциональная характеристика клеточных и тканевых компонентов щитовидной железы при ее патологии / Е. Б.Тупикина, С. А.Степанов, Н. В.Богомолова, Н. М.Амирова. Архив патологии. (62, 5): 24-29.
7. Тухтаев К.Р., Абдурахманов М., Тухтаев Н.К. 1999. Влияние иммуномодулина на структурно-функциональное состояние органов иммунной и эндокринной систем в условиях хронического токсического гепатита. Экспериментальная и клиническая фармакология. (6): 66-68.
8. Шарова Н.И., Ярилин А.А., Кочергина Н.И. 1996. Выработка гормонов эпителиальными клетками тимуса человека in vitro. Иммунология. (4): 13-15.
9. Ferdella C., Poggi N., Gloder S. 2001. High prevalence of subclinical thyroidal disease among individuals attended in health control. Rev Mtd. chil. (129): 155-160.

Нугманова У.Т.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНО – ВСАСЫВАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПРОЦЕССЕ ИНТЕГРАЦИИ И ИММУННОЙ ФУНКЦИЙ ТОНКОЙ КИШКИ

*ассистент кафедры гистологии и медицинской биологии,
Ташкентская медицинская академия, г.Ташкент*

STRUCTURAL CHANGE DIGESTIVE-ABSORPTIVE SYSTEM IN THE INTEGRATION PROCESS AND THE IMMUNE FUNCTION OF THE SMALL INTESTINE

Nugmanova Umida Takhirovna, assistant of the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

АННОТАЦИЯ

Изучен процесс интеграции пищеварительно-всасывательной и иммунной систем в слизистой оболочке тонкой кишки в раннем постнатальном онтогенезе.

Под микроскопом МБС – 9 стереоскопически в динамике возраста и вдоль тонкой кишки осуществлён подсчёт пейеровых бляшек, микроскопически (свето- и электронномикроскопически) установлено число лимфатических узелков в них, линейные параметры, взаимоотношения стромальных и иммунных клеток. В слизистой оболочке тонкой кишки, тесно интегрируясь между собой,

формируются высокоадаптированная пищеварительно-всасывательная и иммунная системы.

Ключевые слова: тонкая кишка, интеграция.

ABSTRACT

The process of integration of digestive-absorptive and immune systems in the mucosa of the small intestine in the early postnatal ontogenesis.

Under the microscope MBS - 9 stereoscopically in the dynamics of age and along the small intestine implemented calculation of Peyer's patches, microscopically (light and electron microscopy) is set to the number of lymph nodules in them, the linear parameters, the relationship of stromal and immune cells. In the mucosa of the small intestine, closely integrating with each other, formed of highly adapted Digestive-absorptive and immune systems.

Keywords: small intestine, integration.

Согласно многочисленным исследованиям, слизистая оболочка тонкой кишки, как и всей пищеварительной трубки, находясь на границе раздела внешняя – внутренняя среда, испытывая на себе постоянно воздействие различных по химической природе веществ, развивает и формирует структуры, функция которых в расщеплении, формировании барьеров, регуляции гомеостаза внутренней среды организма [9, 2 с., 11, 2 с.]. Однако при рождении млекопитающих относительно хорошо развиты структура и функция тонкой кишки [9, 2 с.], периферические органы иммунной системы, в частности, ИССО находятся в зрелом состоянии на антигены пищевого и микробного происхождения [3, 2 с.]. При биологической целесообразности автономного становления, как пищеварения, так и иммунной, в динамике смены естественного молочного питания на дефинитивное, возникает необходимость изучения механизмов их интеграции как наиболее оптимального способа регуляции гомеостаза, оптимизации адаптации функциональной системы, как органа, так и организма в целом.

Цель настоящего исследования: изучение механизмов формирования интеграции пищеварительно – всасывательной и иммунной систем в слизистой оболочке тонкой кишки в раннем постнатальном онтогенезе.

Материал и методы. Согласно цели исследования свето- электронномикроскопически изучены слизистая оболочка тощего и подвздошного отделов, пейерова бляшка тонкой кишки белых беспородных крыс в возрасте 1, 3, 7, 14, 21 (естественное вскармливание грудным молоком) суток после рождения. Под микроскопом МБС – 9 стереоскопически в динамике возраста и вдоль тонкой кишки осуществлён подсчёт пейеровых бляшек, микроскопически (свето- и электронно микроскопически) установлено число лимфатических узелков в них, линейные параметры, взаимоотношения стромальных и иммунных клеток.

Иммунологические методы. Иммуноглобулиновые рецепторы на плазмолемме энтероцитов ворсинок тонкой кишки и лимфоцитов выявлены иммунопероксидным методом. Результаты собственных исследований. У 3 мес. половозрелых крыс с нормальной кишечной микрофлорой афферентное звено ИССО (пейерова бляшка) состоит в среднем из 5-6 лимфатических узелков, куполообразно выпячивающихся в просвет тонкой кишки и выстланных одним слоем призматического эпителия, инфильтрированного многочисленными лимфоцитами.

Структурно-функционально каждый лимфатический узелок имеет зародышевый (герминативный) центр, фолликулярную (В-лимфоциты; V_L), парафолликулярную (Т-лимфоциты; T_L) зоны, купол (T_L и T_V). Поверхность купола образована М-единичными нейрорецепторными и многочисленными межэпите-

лиальными T_L . Согласно литературы, М-клетки рецепторопосредованным эндоцитозом из просвета кишки транспортируют антигены к межэпителиально расположенным антигенсвязывающим T_L [8, 3 с.], которые регулярно мигрируют в зону купола лимфатических узелков пейеровой бляшки. В последней взаимодействия с макрофагами стимулируют Т- и В- бласты. Если Г.В.Пинегин, М.М.Карскова (2009) характерной особенностью макрофагов считают высокую функциональную активность и слабую способность синтезировать провоспалительные кинины, то в зоне купола их деятельность определяется свойствами перевариваемого антигена. На этом основании в зоне купола регулируется дифференцировка стимулируемых Т- и В- бластов.

Зоны лимфатического узелка в пейеровых бляшках вдоль тонкой кишки имеют характерный состав клеток и он существенно не различается при сравнении с данными других авторов.

Результаты и обсуждение. Если у 3 мес. крыс количество пейеровых бляшек вдоль тонкой кишки варьирует от 17 до 28 (в среднем 24,5), то у односуточных крыс они едва выявляются в каудальной части 12-перстной и подвздошной кишки. Они представляют собой диффузные скопления лимфоцитов в собственной пластинке слизистой оболочки. В динамике возраста (1,3,7,14,21 и 90 суток после рождения) число пейеровых бляшек постепенно увеличивается. Через 2 недели, когда животные переходят на смешанное питание, их число возрастает до 10,5 и появляется впервые герминативная зона, где концентрируются в основном бластные и митотически делящиеся лимфоциты. Макрофаги единичны, содержат в цитоплазме умеренное число полиморфных лизосом.

После перехода животных на окончательное питание число пейеровых бляшек вдоль тонкой кишки становится как у половозрелых крыс. Кроме того, отчетливо формируются все характерные для афферентного звена ИССО структурно-функциональные зоны, эпителий, который инфильтрируется T_L .

Таким образом, афферентное звено ИССО тонкой кишки формируется после рождения, в основном ко времени перехода на дефинитивное питание.

В афферентном звене ИССО тонкой кишки также вместо ранее выявляемых бластных клеток выявляются дифференцированные и плазматические, тучные и другие соединительнотканые клетки и лейкоциты, единичные макрофаги, тесно взаимодействующие с Т- и В- лимфоцитами. Между каемчатыми энтероцитами ворсинок T_L обнаруживаются больше, крипт – очень редко,

Следовательно, в собственной пластинке слизистой оболочки как афферентном звене ИССО во времени и пространстве ко времени перехода на окончательное питание дифференцируются клетки

рыхлой соединительной ткани. Они тесно интегрируются с афферентным звеном, а также структурами собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки. Их соотношение определяется характером микробиоценоза в просвете органа.

При электронномикроскопическом изучении процесса всасывания грудного молока у 1-3 суточных крыс выявлен его транспорт на 1 этапе из просвета тонкой кишки в каемчатые энтероциты ворсинок путем рецепторно-опосредованного эндоцитоза. Тубуло-везикулярные образования в апикальной цитоплазме энтероцитов, под основаниями микроворсинок с помощью Fc-рецепторов в надъядерную зону, к структурам комплекса Гольджи транспортируют нутриенты, входящие в состав грудного молока. Как отмечают многочисленные авторы, ферменты, входящие в состав молока и микроорганизмов переваривают определённые белки, жиры и углеводы [1, 5 с., 9, 5 с.]. При этом биологически активные факторы - иммуноглобулины, гормоны, факторы роста и т.д. всасываются и транспортируются трансцеллюлярно к кровеносным и лимфатическим сосудам собственной пластинки без изменения после однократного кормления.

На протяжении тонкой кишки процесс всасывания ингредиентов грудного молока через слизистую оболочку длится в среднем 5-6 часов. Регуляция его транспорта осуществляется благодаря структурам комплекса Гольджи, расширениям между энтероцитами, интерстиция вокруг кровеносных и лимфатических капилляров.

Рецептор – опосредованный эндоцитоз полностью прекращается ко времени перехода на дефинитивное питание. Одновременно наблюдается формирование системы крипта – ворсинка, проксимально-дистального градиентов переваривания нутриентов. Взаимосвязано и согласовано с формированием полостного и мембранного пищеварения в слизистой оболочке становление афферентного и эфферентного звеньев ИССО. На основании полученных результатов нами постулируются следующие уровни регуляции гомеостаза в тонкой кишке. Первым из них является полость органа, где осуществляется полостное пищеварение под действием ферментов поджелудочной железы, желчи, собственно энтеральных, экстражированных энтероцитов, лейкоцитов и кишечной микрофлоры.

Вторым уровнем является надэпителиальный слой слизи (НЭСС). Он надежно, по периметру вдоль всей кишки, отделяет просвет органа от поверхности слизистой оболочки. В его состав в интегрированном состоянии включены в высокой концентрации пространственно ориентированные ферменты поджелудочной железы, желчи, энтеральные и микрофлоры, экстражированных энтероцитов. В нем также выявлены субстрат связывающие белки, Ig A, бактерии резидентной флоры [4, 6 с., 7, 6 с., 9, 6 с.]. Процессы,

протекающие в НЭСС, просвете кишки и на поверхности слизистой оболочки, интегрированы между собой по принципу обратной связи благодаря высоким адаптивным возможностям.

Третий, водно – электролитный уровень, расположен тонкой полоской между НЭСС и гликокаликсом энтероцитов, выстилающих поверхность слизистой оболочки тонкой кишки. Он сбалансирован по составу электролитов, pH, содержит только энтеральные ферменты, высокую концентрацию sIg A.

Четвертым уровнем регуляции гомеостаза внутренней среды следует считать гликокаликс и плазмолемму микроворсинок энтероцитов ворсинок. Он пространственно сопряжен с первой фазой процесса всасывания через плазмолемму энтероцитов. Он также включает гидролитические ферменты мембранного пищеварения, транспортные ферменты, sIg A [4, 6 с., 9, 6 с.].

sIgA, который определяется на каждом из 4 уровней регуляции пищеварения и всасывания, связывая субстраты антигенной природы (пищи, микроорганизмов и др.), увеличивает их массу, препятствует их прохождению через плазмолемму микроворсинок, способствует их оптимальному перевариванию при перемещении их от просвета кишки к ее поверхности.

Однако, как у крыс, так и у людей [4, 6 с., 11, 6 с.] отмечают транспорт малых количеств антигенов через эндоцитозные образования между основаниями микроворсинок энтероцитов. Через 1 час после кормления они вызывают образование полиморных лизосом в надъядерной зоне, где перевариваются абсорбированные субстраты. Аналогично вторичные лизосомы могут образовываться в макрофагах собственной пластинки тощей кишки.

Таким образом, в слизистой оболочке тонкой кишки в раннем постнатальном онтогенезе одновременно, тесно интегрируясь между собой, формируются высокоадаптированная пищеварительно – всасывательная и иммунная системы. Ко времени перехода на дефинитивное питание отмечается образование нескольких этапов пищеварения, взаимосвязанных с sIg A, благодаря которым обеспечивается гомеостатирование внутренней среды организма от антигенов, содержащихся в пище и микроорганизмах.

Список литературы

1. Воронцов И.М., Фатеева Е.М. 1998. Естественное вскармливание: его значение и поддержка. СПб.: ИКФ: 272.
2. Зуфаров К.А., Юлдашев А.Ю. 1981. Ультраструктурная организация пучковых клеток эпителия тонкой кишки. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.(91, 6): 759-762.

3. Ковальчук Л.В., Панковская Л.В. 2000. Отсутствие прайминта лейкоцитов у новорожденных. Иммунология. (3): 12-15.
4. Морозов И.А. 1998. Структура и функция слизистого слоя тонкой кишки. М.: Темнус: 282.
5. Панегин Б.В., Карсакова М.И. 2009. Макрофаги: свойства и функция. Иммунология. (3): 241-249.
6. Судаков К.В. 2005. Физиология функциональных систем организма. М.: Медицина: 304.
7. Хавкин А.И. 2006. Микрофлора пищеварительного тракта. М.: Фонд социальной защиты: 416.
8. Хаитов Р.М. 2005. Физиология иммунной системы. М.: ВИНТИ: 448.
9. Юлдашев А.Ю., Рахманов Р.Р., Нишанова А.А. 2009. Механизм регуляции гомеостаза при всасывании белка из тонкой кишки в кровь. Медицинский журнал Узбекистана. (5): 79-87.
10. Юлдашев А.Ю., Кахарова З.А., Юлдашев М.А. 2008. Функциональная морфология иммунной системы слизистой оболочки тонкой кишки. Ташкент: Янги аср авлоди.: 48.
11. Яригин А.А. 2003. Иммунные процессы в желудочно-кишечном тракте. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. (4): 46-51.
12. Jonson L.R. 2006. Physiologic of gastrointestinal tract. London: Acad Press. Elsevier. (1, 2): 2000.

БОТАНИКА

УДК 581.55 + 582.4

Пастухова А.И.¹, Петрова Н.А.², Шилова И.В.³, Кашин А.С.⁴

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ *Calophaca wolgarica* (L. fil.) DC. В ЦЕНОПОПУЛЯЦИЯХ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

¹биолог, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов;

²аспирант, Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов;

³кандидат биологических наук, доцент, Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов;

⁴доктор биологических наук, профессор, Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

MORPHOLOGICAL VARIABILITY IN THE POPULATIONS *CALOPHACA WOLGARICA* (L. fil.) DC. OF THE VOLGOGRAD REGION

Pastukhova Anastasiya, biologist, Saratov State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov

Petrova Nadezhda, graduate student, Saratov State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov

Schilova Irene, Candidate of Science, assistant professor of Saratov State University, Saratov

Kaschin Alexander, Doctor of Sciences, professor of Saratov State University, Saratov

АННОТАЦИЯ

Рассмотрена изменчивость и пластичность некоторых морфологических параметров особей *Calophaca wolgarica* в его естественных популяциях Волгоградской области с использованием морфометрических методов. Определены оптимальные условия для существования вида.

ABSTRACT

Considered the variability and plasticity of some morphological parameters of individuals *Calophaca wolgarica* in its natural populations of the Volgograd region using morphometric methods. Defined the optimal conditions for the species existence.

Ключевые слова: *Calophaca wolgarica*, морфологическая изменчивость, ценопопуляция, пластичность, жизнеспособность

Keywords: *Calophaca wolgarica*, morphological variability, cenopopulation, flexibility, vitality

Майкараган волжский (*Calophaca wolgarica* (L. fil.) DC.) - засухоустойчивый кустарник семейства Fabaceae Lindl. Эндемик Юго-Восточной Европы, нуждающийся в полной охране. В Красной книге РФ имеет статус 2а [5]. Единственное указание на сборы *C. wolgarica* на территории Саратовской области датируется 1869 – 1870 гг. [1]. Современными сборами произрастание вида в регионе не подтверждается (гербарии SARAT, SARBG). Представ-

ляется чрезвычайно актуальным изучение различных аспектов биологии и экологии данного вида, выявление лимитирующих факторов для его существования.

Исследования проводили в 2013 г. в фазу массового созревания семян в 7 ценопопуляциях (ЦП) из Палласовского (№ 1), Городищенского (№ 2), Светлоярского (№ 3, 4), Октябрьского (№ 5, 6) и Котельниковского (№ 7) р-нов Волгоградской области. У взрослых генеративных особей (g_2) измеряли 14 параметров: высота растения (h), диаметр куста (d), количество побегов (N_G), количество боковых побегов первого порядка (B_1), длина побега (L_G), длина бокового побега первого порядка (L_{B1}), количество листьев на основном побеге (N_L), количество листочков сложного листа (N_l), длина листа (L_L), длина листочка (L_l), ширина листа (Wh_L), ширина листочка (Wh_l), длина плода (L_{Fr}), ширина плода (Wh_{Fr}) (табл.). В связи с редкостью растений проводился прижизненный учет, исключая уничтожение растений и отдельных органов [3]. Для каждого параметра определялись среднее арифметическое (x), ошибка среднего арифметического (S_x), среднее квадратичное отклонение (δ), лимиты (максимум и минимум). Для определения достоверности различий средних значений использовали U-критерий Манна-Уитни [2]. Уровень изменчивости признаков оценивали величиной коэффициента вариации ($V, \%$): меньше 7% - изменчивость признака очень низкая, 7-12% - низкая, 13-20% - средняя, 21- 40% – высокая, больше 40% - очень высокая [6]. Для характеристики жизнеспособности ЦП использовали индекс виталитета (IVC) [4]:

$$IVC = \frac{\sum_{i=1}^N X_i^1 / X_i^2}{N},$$

где X_i^1 – значение *i*-го признака в ЦП, X_i^2 – среднее значение *i*-го признака для всех ЦП, *N* – число признаков.

При сравнении индексов виталитета ЦП (IVC) (табл.) очевидно, что в наиболее благоприятных условиях в порядке снижения жизненности находятся ЦП № 6, 2, 3 и 4, характеризующиеся величиной IVC выше 1. Первые три из них произрастают вдоль автотрассы по опушкам прилегающих к дороге лесополос в относительно сходных условиях

(участки с относительно горизонтальной поверхностью, почва светло-каштановая, довольно богатая, увлажнение лугово-степное или средне-степное, умеренно переменное, проективное покрытие в сообществе – до 50%). Последняя из указанных ЦП 4 произрастает по пологим склонам неглубокой балки с близкими к предыдущим ЦП прочими условиями произрастания. Вышеперечисленным ЦП по жизненности несколько уступают ЦП № 7 и 1.

Таблица

Морфометрические параметры взрослых генеративных особей (*g*₂) *Calophaca wolgarica*

Морфометрический параметр	Номер ценопопуляции						
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7
h, см	23.38±1.56 18.85	59.42±1.78 13.03	55.20±6.55 37.53	42.10±2.77 20.81	36.33±2.17 17.94	50.57±3.32 17.38	32.41±3.39 34.71
d, см	88.75±3.55 11.33	99.0±6.29 27.69	104.30±6.98 21.17	98.30±6.07 19.53	87.22±8.25 28.36	130.14±7.73 15.71	117.09±10.95 31.02
NG, шт.	38.50±3.32 24.41	44.53±4.47 43.80	25.70±5.31 65.39	22.40±8.47 82.03	11.89±1.88 47.48	26.71±3.02 29.92	26.73±5.28 65.47
B1, шт.	14.50±2.15 42.03	13.00±0.89 29.68	9.40±0.92 31.00	21.60±6.68 97.73	9.78±0.64 19.66	12.86±1.10 22.64	10.73±1.14 35.40
LG, см	33.00±4.32 37.04	58.37±2.37 17.68	53.10±4.18 24.88	50.10±5.81 36.70	41.78±2.28 16.40	60.00±4.62 20.39	50.82±2.85 18.62
Lb1, см	7.79±2.42 82.31	3.92±0.62 69.36	14.60±1.55 33.59	16.10±2.73 53.55	19.22±6.01 93.79	25.43±2.91 30.28	16.82±2.23 44.00
NL, шт.	77.80±11.22 40.74	64.26±6.25 42.36	74.30±10.64 45.27	124.20±14.79 37.66	86.22±16.83 58.54	136.57±12.93 25.05	112.36±12.97 38.27
Nl, шт.	16.13±0.58 10.18	18.33±0.62 11.71	12.00±0.75 19.64	13.60±0.73 17.05	15.00±1.00 20.00	13.29±0.92 18.29	13.55±0.67 16.30
LL, см	5.69±0.65 32.08	6.63±0.29 19.25	6.51±0.31 15.2	4.86±0.33 21.32	5.36±0.24 13.57	5.11±0.81 12.23	4.87±0.31 20.77
Ll, см	0,81±0,04 12,20	1.14±0.04 16.90	1.36±0.09 21.98	1.01±0.07 22.06	1.02±0.07 19.43	1.01±0.15 38.37	0.96±0.12 42.09
WhL, см	2.00±0.16 4.96	2.34±0.09 16.59	2.50±0.14 17.18	1.89±0.24 29.14	2.11±0.09 12.85	2.06±0.20 26.31	2.04±0.18 28.91
Whl, см	0.63±0.04 18.64	0.72±0.04 21.47	0.75±0.05 20.12	0.63±0.04 21.23	0.67±0.04 18.37	0.64±0.05 19.79	0.59±0.03 19.23
LFr, см	3.61±0.09 6.69	2.80±0.09 15.02	3.12±0.21 21.2	2.83±0.12 13.12	2.54±0.11 11.90	2.78±0.21 15.39	2.82±0.08 10.49
WhFr, см	0.74±0.03 10.09	0.62±0.04 25.80	0.74±0.03 14.53	0.66±0.02 10.59	0.50±0.04 23.09	0.55±0.03 10.50	0.57±0.02 15.41
IVC	0.93	1.05	1.04	1.02	0.89	1.09	0.95

Примечание: в каждой ячейке над чертой среднее значение и ошибка среднего, под чертой значение коэффициента вариации (%). Здесь и далее *h* – высота растения, *d* – диаметр куста, *NG* – количество побегов, *B1* – количество боковых побегов первого порядка, *LG* – длина побега, *Lb1* – длина бокового побега первого порядка, *NL* – количество листьев на основном побеге, *Nl* – количество листочков сложного листа, *LL* – длина листа, *Ll* – длина листочка, *WhL* – ширина листа, *Whl* – ширина листочка, *LFr* – длина плода, *WhFr* – ширина плода. *IVC* – индекс виталитета ценопопуляции

Они произрастают в наиболее аридных условиях степного Заволжья (ЦП 1) или юга Правобережья Волгоградской области (ЦП 4) с относительно близкими к выше указанным ЦП остальными параметрами. Наименее благоприятными условиями произрастания характеризуется ЦП № 5 (довольно крутой склон с каштановыми солонцеватыми почвами с осыпающимся субстратом без древесной растительности вблизи).

Таким образом, судя по виталитетному состоянию исследуемых ЦП, наиболее благоприятные условия для произрастания майкарагана в Волгоградской области складываются на выровненных участках с незасоленной светло-каштановой довольно богатой почвой в кустарниково-злаковых и пырейных сообществах по опушкам лесополос, на которых отсутствует выкос и минимален выпас скота. В наименее благоприятных условиях находятся ЦП на крутых склонах балки восточной и юго-восточной экспозиции на осыпающемся субстрате, представляющим собой фактически материнскую породу, крайне обеднённую питательными веществами и в ненарушенных местах прикрытую сверху солонцеватыми светло-каштановыми почвами. В этом отношении даже большая аридность условий произрастания менее негативно сказывается на состоянии ЦП. Ряд исследованных ЦП по градиенту ухудшения условий обитания (экоклин) может быть представлен следующим образом:

ЦП №6 (46) → ЦП №2 (41) → ЦП №3 (42) → ЦП №4 (43) → ЦП №7 → (48) → ЦП №1 (37) → ЦП №5 (45).

Минимальное развитие особей майкарагана по большинству исследованных параметров было характерно также для ЦП № 5, 7 и 1.

Наиболее изменчивыми признаками оказались количество побегов куста ($V=24.41-82.03\%$), количество боковых побегов ($V=22.64-97.73\%$), длина боковых побегов ($V = 30.28 - 93.79 \%$) и количество листьев на основных побегах ($V=25.05-58.54\%$). Уровень изменчивости данных признаков высокий и очень высокий. Уровень изменчивости от среднего

до высокого имели такие признаки, как высота растений ($V=13.03-37.53\%$), диаметр куста ($V=11.33 - 31.02\%$), длина побегов ($V= 16.4 - 37.04\%$), длина листа ($V=12.23-32.08\%$) и ширина листочка ($V= 18.37-21.47\%$). Параметр ширины листа ($V= 4.96-29.14\%$) имел уровень изменчивости от очень низкого до высокого, а параметр длины листочка сложного листа ($V=12.20-42.09\%$) – от среднего до очень высокого. Наибольшей стабильностью отличался признак «количество листочков в составе сложного листа». Коэффициент вариации этого признака составил $10.18 - 20.00\%$, что соответствует низкому и среднему уровню изменчивости. Коэффициент вариации длины плодов ($V= 6.69 - 21.20\%$) и ширины плодов ($V= 10.09-25.80\%$) соответствовал уровню изменчивости от низкого до высокого.

Список литературы:

1. Баум О. О. Отчёт о ботанических исследованиях на правом берегу Волги между Казанью и Сарептой // Протоколы заседаний общества естествоиспытателей при Императорском Казанском университете. 1869 – 1870 гг. Казань, 1870. С. 65 -73.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
3. Злобин Ю. А., Скляр В. Г., Клименко А. А. Популяции редких видов растений: теоретические основы и методика изучения. – Сумы: Университетская книга, 2013. – 439 с.
4. Ишбирдин А. Р., Ишмуратова М. М. Методы популяционной биологии // Материалы докладов VII Всероссийского популяционного семинара (часть 2), Сыктывкар, 2004. - С. 113 – 120.
5. Камелин Р. В., В. В.Федяева. Майкараган волжский - *Calophaca wolgarica* (L. fil.) Fisch. ex DC. // Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. С. 225-226.
6. Мамаев С. А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М.: Наука, 1972. – 283 с.

Петрищева Т.Ю.

ПРОБЛЕМЫ РЕИНТРОДУКЦИИ НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ЛИПЕЦКОЙ ОБЛАСТИ

*кандидат биологических наук, зав.кафедрой химии и биологии
Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, г. Елец*

*PROBLEMS OF REINTRODUCTION OF SOME RARE SPECIES OF PLANTS OF THE LIPETSK REGION
Petrishcheva Tatyana Yurevna, Candidate of Biology,
department chair of chemistry and biology, Yelets state
university of I.A. Bunin, Yelets*

АННОТАЦИЯ

Целью работы было подробное изучение редких видов растений Липецкой области, их биологических и экологических характеристик для обоснования необходимости

сти дальнейшей реинтродукции этих видов в естественные экологические системы. Основные методы исследований: маршрутный, описательный.

ABSTRACT

Detailed studying of rare species of plants of the Lipetsk region, their biological and ecological characteristics for justification of need of further reintroduction of these types in natural ecological systems was the purpose of work. Main methods of researches: route, descriptive.

Ключевые слова: редкие виды растений, Красная книга, биоразнообразие, реинтродукция.

Keywords: rare species of plants, Red List, biodiversity, reintroduction.

Эффективная охрана редких видов растений возможна при учете комплекса действующих факторов: абиотических, биотических, агроландшафтных и т.п. Наряду с традиционными способами сохранения биоразнообразия необходима разработка новых подходов к решению данной проблемы. Одним из перспективных направлений на данный момент является реинтродукция редких и исчезающих видов растений в естественные экосистемы. Для эффективной реинтродукции необходимо детальное изучение биологических и экологических особенностей видов, их распространения, характера существующих биотических связей.

Важнейшее место в мониторинговых исследованиях флоры Липецкой области занимает анализ состояния видов растений, находящихся под угрозой исчезновения. Это самая уязвимая категория растений, поэтому детальное изучение характера распространения данных видов растений на территории области, анализ их экологического состояния, а также разработка системы мер по сохранению и воспроизводству популяций этих растений позволят сохранить исчезающие виды растений и экологическое равновесие экосистем, в которых они произрастают.

В Красной книге Липецкой области (2005) весь список объектов 1 категории редкости обширен и насчитывает 56 экземпляров, поэтому процесс детального изучения данной категории является трудоемким. Обобщенные литературные данные, а также собранный фактический материал гербарных хранилищ позволили нам отобрать для дальнейших исследований 33 наиболее уязвимых вида из общего списка растений 1 категории редкости. В эту группу вошли:

1. Виды, длительно не обнаруживающиеся, либо имеющие резкие негативные тенденции на территории области (Пельтигера мягкая – *Peltigera malacea*, Плеопсидиум желтый – *Pleopsidium flavum*, Леканора беловатая – *Lecanora albescens*, Коллема ушковидная – *Cyllema auriforme*, Неккера перистая – *Neckera pennata*, Пион тонколистный – *Paeonia tenuifolia*);
2. Виды растений, формирующие малочисленные популяции (Зубяночка трехраздельная –

Sphaerotorrhiza trifida, Астрагал белостебельный – *Astragalus albicaulis*, Астрагал шерстистоцветковый – *Astragalus dasyanthus*);

3. Растения, подвергающиеся постоянному сбору из-за лекарственных или морфологических особенностей. Это лекарственные растения (Голубика – *Vaccinium uliginosum*, Роза Куйманская – *Rosa kujmanica*, Чабрец меловой – *Thymus cretaceus*, Лук медвежий (черемша) – *Allium ursinum*). И растения, которые используются в рекреационных целях, от чего сильно угнетены (Касатик низкий – *Iris humilis*, Ладьян трехраздельный – *Coralorrhiza trifida*, Двухлепестник альпийский – *Circaea alpina*, Дремлик болотный – *Eriopactis palustris* Дымянка Вайана – *Fumaria vailantii*, Живучка ползучая – *Ajuga reptans*);
4. Паразитические виды растений, изучение которых важно, на наш взгляд, с позиции анализа необходимости сохранения охранного статуса этих растений (Заразиха голубая – *Orobanchae caesia*, Заразиха обыкновенная – *Orobanchae vulgaris*).

В ходе проведенных нами экспедиционных исследований на территории Липецкой области были обнаружены 9 видов 1 категории редкости: голокучник Роберта, роза куйманская, касатик низкий, астрагал белостебельный, астрагал шерстистоцветковый, пион тонколистный, дремлик болотный, живучка ползучая, чабрец меловой. Кроме того, обнаружены виды, относящийся к 0 категории редкости Красной книги Липецкой области, 2005 – венерин башмачок и ятрышник шлемоносный.

На основании морфобиологических характеристик видов, результатов их изучения в ареале, фитоценологических и экологических особенностей мест произрастания рекомендовано воспроизводство и охрана следующих видов: голокучник Роберта, пион тонколистный, дремлик болотный, астрагал белостебельный, астрагал шерстистоцветковый, чабрец меловой, венерин башмачок, ятрышник шлемоносный.

Воспроизводство исследуемых видов растений необходимо:

- ✓ Для стабилизации существующих сообществ, за счет их участия в различного рода биотических связях (пион тонколистный, дремлик болотный, башмачок настоящий (венерин), ятрышник шлемоносный).

Дремлик болотный – для поддержания сфагновых болот, которые являются местом для гнездования многих видов птиц, а также в целях стабилизации лесных массивов, расположенных вблизи переувлажнённых почв;

Пион тонколистный как биоиндикатор на загрязнённость инсектицидами, поскольку насекомые, опыляющие пион, очень чувствительны к высоким дозам инсектицидов, что приводит к снижению обсеменённости ценопопуляций пиона;

Венерин башмачок для устойчивого функционирования дубрав на карбонатных маломощных эродированных почвах, особенно по берегам лесных ручьёв;

Ятрышник шлемоносный в целях обеспечения хорошей жизнеспособности кустарниковых или лесных массивов.

✓ Для рекультивации земель и укрепления склонов (астрагал белостебельный, астрагал шерстистоцветковый, чабрец меловой, голокучник Роберта).

С целью сохранения и восстановления описанных нами видов рекомендован ряд природоохранных мер, в частности: разработка мер по снижению уровня водной и ветровой эрозии, оптимизация существующих абиотических факторов, регуляция негативных форм биотических связей в сообществах, а также снижение уровня антропогенной нагрузки на экосистемы.

Виды касатик низкий и живучка ползучая не оказывают особого влияния на существующие сообщества, поэтому восстановление ценопопуляций данных видов возможно только для поддержания биоразнообразия экологических систем.

Литература:

1. Красная книга Липецкой области. Т-1. Растения, грибы, лишайники. / под ред. В.С. Новикова. М.: КМК. – 2005. – 510 с.
2. Скользнева Л.Н. Недосекина Т.В., Скользнев Н.Я. 2012. Сведения о распространении редких, охраняемых и нуждающихся в контроле и оценке существующих угроз сосудистых растений на территории Липецкой области (по материалам 2012 года). Состояние редких видов растений и животных Липецкой области: информационный сборник материалов. 112 - 145.

Кашин А.С.¹, Петрова Н.А.², Шилова И.В.³

СТРУКТУРА ИЗМЕНЧИВОСТИ НЕКОТОРЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТЮЛЬПАНА ШРЕНКА (*TULIPA SCHRENKII* REGEL)

¹доктор биологических наук, профессор, Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов;

²ведущий биолог УНЦ «Ботанический сад», Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов;

³кандидат биологических наук, ведущий биолог УНЦ «Ботанический сад» Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

STRUCTURE VARIABILITY OF SOME MORPHOLOGICAL PARAMETERS TULIPA SCHRENKII REGEL

Kashin Alexandr, Sc.D., Professor, Saratov State University, Saratov

Petrova Nadezda, leading biologist UC "Botanical Garden", Saratov State University, Saratov

Shilova Irina, PhD, a leading biologist UC "Botanical Garden", Saratov State University, Saratov

АННОТАЦИЯ

Рассмотрена изменчивость и пластичность некоторых морфологических параметров тюльпана Шренка. Установлена структура изменчивости признаков по методу Ростовской. Из рассмотренных признаков выделены четыре группы системных индикаторов.

ABSTRACT

We consider the variability and plasticity of some morphological parameters tulip Schrenk. The structure variation of characters according to the method of Rostov. Among the above four groups of signs of systemic indicators.

Ключевые слова: тюльпан Шренка, морфометрические параметры, системные индикаторы, пластичность, изменчивость.

Keywords: Tulipa schrenkii Regel, morphometric parameters, system indicators, plasticity, variability.

Тюльпан Шренка (*Tulipa schrenkii* Regel) является одним из видов, численность которого в настоящее время сокращается на территории Нижнего Поволжья [7]. Вид занесен в Красную книгу Российской Федерации (категория и статус 2 аб) [2] и Красную книгу Саратовской области [3]. В этой связи необходимы исследования особенностей биологии и экологии, а также состояния популяций данного вида в естественных местообитаниях для введения своевременных мер охраны. При работе с редкими видами растений одним из основных способов получения информации об их особенностях их локальных популяций являются морфометрические методы [1].

Основной целью нашей работы было изучение структуры изменчивости некоторых морфологических параметров растений тюльпана Шренка в его естественных ценопопуляциях (ЦП). В 2013 г. было

исследовано 8 ЦП тюльпана на территории Саратовской области. В 2014 г. проведено их повторное исследование и изучен ряд новых ЦП. Всего проведены популяционные исследования 17 ЦП в Саратовской области и 1 ЦП в Палласовском районе Волгоградской области.

В каждой ЦП проводили измерение морфометрических параметров у 30 случайно выбранных растений (либо у всех особей, если численность ЦП менее 30 шт.). Измерение параметров проводили у живых растений без их уничтожения [5]. Всего в анализе в 2013 г. участвовали 255 генеративных особей, в 2014 – 522 особи тюльпана Шренка.

Для каждого параметра определялось среднее арифметическое (\bar{x}), ошибка среднего арифметического (S_x), среднее квадратичное отклонение (δ), лимиты (максимум и минимум), коэффициент вариации (V , %) [8]. Статистическую обработку проводили с использованием программ Microsoft Office Excel, STATISTICA 6.0. Уровень изменчивости признаков оценивали по Мамаеву [4]: коэффициент вариации меньше 7% - изменчивость признака очень низкая, 7-12% - низкая, 13-20% - средняя, 21- 40% – высокая, больше 40% - очень высокая. Для оценки пластичности использовали индекс фитоценотической пластичности (I_p), под которым понимается отношение амплитуды пластичности к коэффициенту свободного развития [1]. Значения индекса фитоценотической пластичности лежат в интервале от 0 до

1. Чем ближе к единице значение индекса, тем выше уровень пластичности рассматриваемого признака.

Н.С. Ростовской [6] показано, что существуют определенные закономерности варьирования морфологических признаков в зависимости от условий окружающей среды. Это позволяет использовать их в качестве системных индикаторов, объединяя в группы по особенностям общей и согласованной изменчивости. Согласованная изменчивость признаков определялась по значениям коэффициента детерминации R^2_{ch} – квадрату коэффициента корреляции r^2 , усредненного по отдельным признакам. Выделяется четыре группы системных индикаторов: 1) эколого-биологические – отражающие согласованную изменчивость особей в неоднородной среде; 2) биологические индикаторы – «ключевые» показатели, изменения которых определяют общее состояние системы; 3) генотипические (таксономические) индикаторы; 4) экологические индикаторы, изменения которых слабо согласованы с общей системой организма.

Анализ морфометрических признаков тюльпана показал, что большинство из них отличаются высоким уровнем изменчивости (табл. 1 и 2). Очень высокий уровень изменчивости ($V > 40\%$) отмечен у диаметра куста, диаметра междоузлия и длины нижнего листа в 2014 г. Средний уровень изменчивости на протяжении двух лет отмечен у длины листочка околоцветника. Также средний уровень изменчивости характерен для высоты бокала и толщины листовой пластинки.

Таблица 1

Средние, максимальные и минимальные значения морфологических параметров особей *Tulipa schrenkii*, 2013 г.

Название параметра	lim		x		V, %	I_p	Уровень изменчивости
	min	max	min	max			
Высота растения, см	3.0	34.0	12.86	24.84	30.77	0.48	Высокий
Длина нижнего листа, см	3.0	19.0	7.85	10.74	21.94	0.13	Высокий
Ширина нижнего листа, мм	0.9	6.4	1.45	2.77	32.88	0.48	Высокий
Длина листочка околоцветника, мм	1.5	5.6	2.93	4.24	20.81	0.27	Средний
Ширина листочка околоцветника, мм	0.6	5.5	1.47	2.96	34.76	0.50	Высокий
Длина побега, см	6.0	30.0	15.17	21.13	26.63	0.28	Высокий

Примечание: *lim* – максимальное (*max*) и минимальное (*min*) значение параметра, *x* – среднее значение параметра.

Наименее пластичными признаками в 2013 г. оказались длина нижнего листа, длина листочка околоцветника, длина побега. Более пластичны высота растения, ширина нижнего листа и ширина листочка околоцветника. В 2014 г. наименее пластичны высота бокала, толщина листовой пластинки. Наиболее пластичными из рассмотренных параметров оказались диаметр куста, высота растения, ширина нижнего листа, ширина листочка околоцветника, длина побега.

Таким образом высокопластичными, с максимальной реакцией на изменение условий местобитания оказались следующие параметры: высота

растения, диаметр куста, ширина нижнего листа, ширина второго листа, ширина листочка околоцветника. Остальные параметры менее пластичны. Стабильным параметром, с минимальным уровнем пластичности, является толщина листовой пластинки.

По результатам исследования структуры изменчивости морфологических признаков (рис. 1), проведенного в 2014 г. к группе экологических системных индикаторов отнесен диаметр куста. Этот признак в большей степени зависит от условий внешней среды и слабо связан с изменениями других признаков особи.

Таблица 2

Средние, максимальные и минимальные значения морфологических параметров особей *Tulipa schrenkii*, 2014 г.

Название параметра	lim		x		V, %	Ip	Уровень изменчивости
	min	max	min	max			
Высота растения, см	6.0	32.0	14.00	24.38	21.66	0.43	Высокий
Диаметр куста, см	1,5	38.0	4.65	9.33	45.99	0.50	Очень высокий
Длина нижнего листа, см	4.0	18.7	6.73	10.91	45.96	0.38	Очень высокий
Ширина нижнего листа, мм	7.5	44.9	16.30	29.73	25.85	0.45	Высокий
Длина второго листа, см	3.0	20.0	6.52	9.51	25.17	0.31	Высокий
Ширина второго листа, мм	5.0	15.0	8.66	17.81	30.60	0.51	Высокий
Длина первого междоузлия, мм	1.3	49.6	22.91	32.60	23.90	0.30	Высокий
Диаметр первого междоузлия, мм	0.7	33.0	2.15	3.09	52.05	0.30	Очень высокий
Высота бокала, мм	13.2	47.3	24.31	33.76	19.41	0.28	Средний
Длина листочка околоцветника, мм	12.5	53.7	27.05	40.35	19.13	0.33	Средний
Ширина листочка околоцветника, мм	7.3	32.3	10.97	20.65	25.12	0.47	Высокий
Длина побега, см	5.5	29.0	11.75	21.00	22.79	0.44	Высокий
Толщина листовой пластинки, мм	0.2	0.8	0.36	0.48	20.86	0.25	Средний

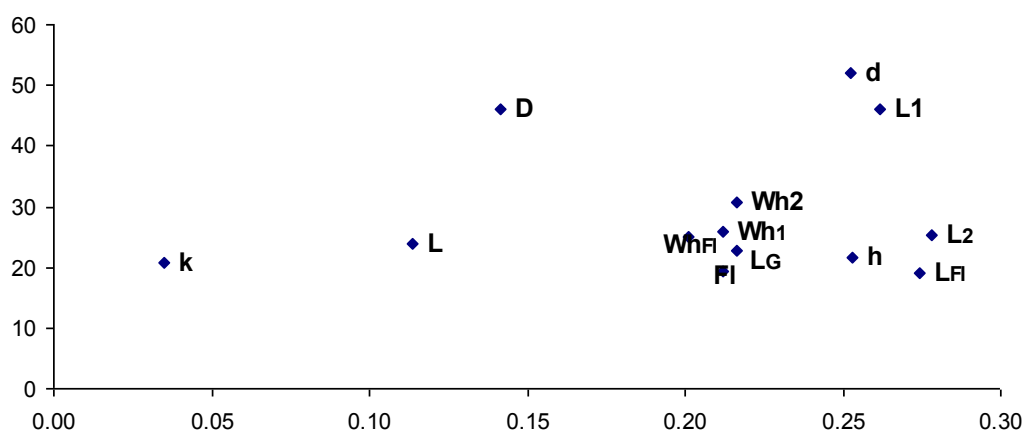


Рис. 1. Структура изменчивости морфологических признаков *Tulipa schrenkii* в 2014г. По оси ординат – коэффициент вариации (V, %), по оси абсцисс – квадрат коэффициента корреляции r^2 , усредненный по отдельным признакам (R^2_{ch}). h – высота растения; D – диаметр куста; L₁ – длина нижнего листа; Wh₁ – ширина нижнего листа; L₂ – длина второго листа; Wh₂ – ширина второго листа; L – длина междоузлия; d – диаметр междоузлия; Fl – высота бокала; L_{F1} – длина листочка околоцветника; Wh_{F1} – ширина листочка околоцветника; L_G – длина генеративного побега; k – толщина листовой пластинки.

К эколого-биологическим системным индикаторам, изменчивость которых зависит от внешних факторов и, определяя корреляционную структуру особи, влечет за собой согласованные изменения всей структуры связей морфологической системы растения, относятся диаметр междоузлия и длина нижнего листа.

К группе генотипических (таксономических) системных индикаторов отнесены толщина листовой пластинки и длина междоузлия.

Все остальные параметры отнесены к группе биологических системных индикаторов, которые в меньшей степени зависят от условий среды, но обладают общей согласованной изменчивостью, являясь ключевыми для всей морфологической структуры особи.

Таким образом, при дальнейшей оценке влияния окружающей среды на развитие особей тюльпана Шренка в первую очередь следует учитывать именно признаки, отнесенные к группам экологических и эколого-биологических системных индикаторов.

Литература

1. Злобин Ю.А., Скляр В.Г., Клименко А.А. Популяции редких видов растений: теоретические основы и методика изучения. Сумы: Университетская книга, 2013. 439 с.
2. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы)/ Гл. редактор: Ю.П. Трутнев и др.; Сост. Р.В. Камелин и др. - М. Товарищество научных изданий КМК, 2008. – С. 333-334.

3. Красная книга Саратовской области: Грибы, лишайники, растения, животные. Саратов: Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
4. Мамаев С.А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М.: Наука, 1972. 283 с.
5. Правила сбора редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений (для ботанических садов) / Комиссия по охране растений Совета ботанических садов СССР // Бюллетень Главного ботанического сада. 1981. Вып. 119. С. 94-96.
6. Ростова Н.С. Корреляции: структура и изменчивость. СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2002. 308с.
7. Сагалаев В.А. Сем. 39. Liliaceae Juss. – Лилейные // Флора Нижнего Поволжья. Том 1. – М.: Товарищество научных изданий КМК. 2006. – С.355-368.
8. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1984. 288 с.

Тихонова С.В.¹, Петров С.С.²

ОСОБЕННОСТИ ФЛОРИСТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И СОСТАВА ЗАБРОШЕННЫХ САДОВО - ОГОРОДНЫХ УЧАСТКОВ ГОРОДА КУМЕРТАУ (РЕСПУБЛИКА БАШКОРТОСТАН)

¹студентка Естественнонаучного факультета, Стерлитамакский филиал

Башкирского государственного университета, Стерлитамак

²кандидат биологических наук, доцент, Стерлитамакский филиал

Башкирского государственного университета, г. Стерлитамак

FEATURES OF THE FLORISTIC STRUCTURE AND COMPOSITION OF THE ABANDONED GARDEN PLOTS IN KUMERTAU (REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN)

Tikhonova Svetlana, student of Natural-science faculty, Sterlitamak Branch of Bashkir State University, Sterlitamak

Petrov Sergey, Candidate of Science, assistant professor of Sterlitamak Branch of Bashkir State University, Sterlitamak

АННОТАЦИЯ

В данной статье приводятся результаты изучения флоры заброшенных садово-огородных участков города Кумертау Республики Башкортостан. Актуальность данного исследования заключается в том что, наряду с основными путями заноса диаспор адвентивных видов растений (берега рек, железнодорожные станции, автомобильные дороги и др. Заброшенные садово-огородные участки, как территории с искусственно создаваемыми коллекциями древесных и травянистых интродуцентов являются одними из ключевых форпостов проникновения адвентивных видов растений на городскую территорию.

ABSTRACT

This article presents the results of studying the flora in the abandoned garden plots in the city of Kumertau of the Republic of Bashkortostan. The relevance of this study is in that, that along with the main routes of introduction of diaspores of the adventive plant species (river banks, railway stations, roads, etc.), abandoned garden plots, as artificially created collections of woody and herbaceous plants, are one of

the key outposts of adventive plant species's penetration in urban area.

Ключевые слова: урбанофлора, садово-огородные участки, адвентивные, инвазивные растения, адвентизация.

Keywords: urban flora, garden plots, adventive, invasive plants, adventisation.

Закономерным следствием разрушения и коренного преобразования естественного растительного покрова является внедрение в его состав чуждых аборигенной флоре видов растений. Такие виды называют адвентивными или заносными, а сам процесс – адвентизацией [1, с.20], [3, с.490].

Сбор материала проводился традиционным маршрутным методом в полевой сезон (июль–август 2013г). Полученные данные были проанализированы по следующим спектрам: систематическому составу, жизненным формам, географической структуре, происхождению адвентивных видов растений и ресурсному значению.

По результатам исследования флора заброшенных садово-огородных участков города Кумертау насчитывает 127 видов сосудистых растений, относящихся к 35 семействам и 106 родам. Наиболее крупными по числу видов семействами на изучаемой территории являются: *Asteraceae* (26 видов – 20,5%), *Poaceae* (15 видов – 11,8%), *Rosaceae* (12 видов – 9,4%), *Fabaceae* (9 видов – 7,1%), *Scrophulariaceae* (6 видов – 4,7%), *Apiaceae* (5 видов – 3,9%), *Brassicaceae* (5 видов – 3,9%), *Caryophyllaceae* (5 видов – 3,9%), *Boraginaceae* (4 вида – 3,1%),

Lamiaceae (4 вида – 3,1%). Наиболее насыщены видами роды *Senecio* (4 вида), *Galium* (3 вида). Высокая позиция семейств *Brassicaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae* отражает общий процесс ослабления в урбанофлоре ее зональных черт, в городах умеренной зоны проявляющийся в смещении основных параметров в термодинамическом направлении и в сторону флор, сформировавшихся в экстремальных условиях, что в целом характерно для антропогенно нарушенных территорий. Высокое положение семейства *Rosaceae* связано с дичанием и расселением интродуцентов. Антропофильность многих видов сем. *Brassicaceae* отмечается многими исследователями [4, с.10], [2, с.81].

В спектре жизненных форм изучаемой флоры по К. Раункиеру лидируют гемикриптофиты (84 вида – 66,14%) – многолетники, способные к активному вегетативному размножению и восстановлению. Среди гемикриптофитов наиболее ярко выражены представители следующих семейств: *Asteraceae* (19 видов) и *Poaceae* (9 видов). Повышение доли гемикриптофитов характерно для флор умеренной зоны Евразии, так как они являются естественными доминантами в растительных сообществах умеренных широт. Доля мега-мезо-микрофанерофитов и терофитов составляет 7,9% соответственно (по 10 видов). Терофитами являются широко представленные на различных нарушенных местообитаниях сорные виды растений.

Географическая структура флоры по составу долготных групп показала преобладание видов с евроазиатским распространением – 62,2% (79 видов). К числу голарктических видов относятся 23 вида (18,1%). Виды этой группы являются космополитами и благодаря своим биологическим особенностям, широкой экологической амплитуде, эффективной репродукции распространены практически на всех континентах.

По отношению к широтному градиенту в изученной флоре преобладают плюризональные виды – 36,2% (46 видов). Вторую позицию занимают лесостепные виды – 18,1% (23 вида). Например, *Amoria montana*, *Galium verum* и др. В целом доля лесостепных и степных видов составляет 12,6% (16 видов), что согласуется с зональным положением изучаемой территории.

В фитосоциологическом спектре флоры лидирующее положение принадлежат видам класса *Molinio-Arrhenatheretea* (25 видов – 19,7%), весомо участие *Artemisietea vulgaris* (21 – 16,5%) и *Festuco-Brometea* (19 – 15,0%). Данный факт говорит о завершающих стадиях сукцессионного процесса на данной территории, выражающейся в активном восстановлении луговых и лугово-степных ценозов.

В составе изученной флоры аборигенные (естественные) виды растений преобладают над адвентивными и составляют 77,2% от всех произрастающих видов. Адвентивный компонент включает 30 видов. На долю археофитов приходится 8,7% (11 ви-

дов) и неофитов – 14,2% (18 видов). По способу заноса преобладают ксенофиты – виды, занесенные случайно в результате хозяйственной деятельности. Они составляют 66,6% (20 видов) от общего числа адвентивных видов. Это такие растения, как *Artemisia absinthium*, *Bromus squarrosus*, *Carduus acanthoides*, *Lactuca serriola* и др. Доля эргазиофитов (видов, занесенных преднамеренно) составляет 33,3% (10 видов). Например, *Acer negundo*, *Prunus spinosa*, *Cerasus fruticosa*, *Hippophae rhamnoides*, *Secale cereale* и др. Многие из этих видов ранее выращивались как садовые растения, которые впоследствии, после прекращения хозяйственной деятельности, одичали.

Изученная флора характеризуется большим разнообразием видов по ресурсному значению. На территории преобладают лекарственные растения (66 видов), такие как: *Achillea millefolium*, *Agrimonia eupatoria*, *Artemisia absinthium*, *Capsella bursa-pastoris*, *Hypericum perforatum*, *Plantago media* и др. и кормовые (39 видов), представленные, в основном, видами семейств: *Poaceae* (*Bromopsis inermis*, *Elytrigia repens*, *Festuca pseudovina*, *Poa angustifolia* и др.), *Asteraceae* (*Achillea millefolium*, *Arctium tomentosum*, *Artemisia austriaca*, *Cichorium intybus*), и *Fabaceae* (*Medicago falcata*, *Amoria montana*, *Trifolium medium*). Кроме того, изученная флора включает большое число медоносных растений (34 вида), среди которых можно выделить весенние медоносы – *Taraxacum officinale*, летние – *Cichorium intybus*, *Capsella bursa-pastoris*, осенние – *Arctium lappa*, *Achillea millefolium*. Также на изучаемой территории найдено 17 видов ядовитых растений (*Conium maculatum*, *Ranunculus repens* и др.) и 19 видов декоративных растений (*Prunus spinosa*, *Cerasus fruticosa* и др.).

Таким образом, без дальнейшего ухода растительные сообщества заброшенных садово-огородных участков быстро деградирует. На них развивается пышная бурьянная растительность, состав видов постепенно расширяется за счет внедрения рудеральных, луговых и степных видов с периферии, а также заносных адвентивных видов.

Список литературы

1. Абрамова Л.М., Миркин Б.М. Антропогенная эволюция растительности в Башкортостане: масштабы процесса и подходы к управлению // Вестн. АН Республики Башкортостан. – 2000 а. Т. 5, № 3. – С. 18-25.
2. Беркутенко А.Н. Антропофильный элемент в семействе *Brassicaceae* советского Дальнего Востока // Проблемы изучения синантропной флоры СССР. М., 1989. С.81-82.
3. Миркин Б.М., Наумова Л.Г. Адвентивизация растительности в призме идей современной экологии // Журн. общ. биологии, 2002. Т. 63, № 6. – С. 489-497.
4. Чичев А.В. Адвентивная флора железных дорог Московской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985. 24с.

Якупова Р.А.¹, Петров С.С.²

ЭЛЕВАТОРЫ КАК ОЧАГ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АДВЕНТИВНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

¹студентка Естественнонаучного факультета, Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, г. Стерлитамак;

²кандидат биологических наук, доцент, Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, г. Стерлитамак

GRAIN ELEVATORS AS SOURCE OF DISTRIBUTION OF ADVENTIVE SPECIES OF PLANTS

Yakupova Razilya, student of Natural-science faculty, Sterlitamak Branch of Bashkir State University, St., Sterlitamak

Petrov Sergey, Candidate of Science, assistant professor of Sterlitamak Branch of Bashkir State University, St. Sterlitamak

АННОТАЦИЯ

В данной статье приводятся результаты изучения флоры территории Стерлитамакского комбината хлебопродуктов Республики Башкортостан. Сбор материала проводился в течение летнего полевого сезона 2013 г. традиционным для флористических исследований маршрутным методом. Полученные данные были проанализированы по следующим спектрам: систематическому составу, жизненным формам, географической структуре, происхождению адвентивных видов растений и ресурсному значению. Во флоре комбината хлебопродуктов было выявлено 102 вида сосудистых растений, относящихся к 30 семействам и 86 родам.

ABSTRACT

This article presented the results of studying the flora in the Sterlitamak bakery's territory of the Republic of Bashkortostan. The collected material was carried out during the summer field season of the 2013th year by traditional floristic route method. The obtained data were analyzed by the following ranges: systematic composition, life forms, geographical structure, the origin of adventive species of plants and resource value. In the territory of the bakery 102 species of vascular plants belonging to 30 families and 86 genera were identified.

Ключевые слова: урбанофлора; адвентивные; инвазивные растения; элеватор.

Keywords: urban flora; adventive; invasive plants; grain elevator.

С расширением экономических связей стран и материков формируются "сообщающиеся сосуды" между биогеографическими регионами [4,с.73]. Они формируют с природными потоками биоты своего рода "биотический дождь" – для преднамеренной и непреднамеренной интродукции растений и животных [1,с.85], [2,с.79]. Как правило, очагами проник-

новения заносных (адвентивных) видов растений являются транспортные пути сообщения [3,с.5]. Наряду с традиционными источниками проникновения адвентов на городскую территорию, существуют и специфичные объекты, как в нашем случае, хлебоприемные предприятия. На данной территории происходит занос не только традиционных сорных растений с полей, но и растений с других регионов и даже материков.

Флора комбината хлебопродуктов г. Стерлитамак насчитывает 102 вида сосудистых растений, относящихся к 30 семействам и 86 родам, в том числе двудольных 28 семейств (75 родов, 91 видов), однодольных – 2 семейства (11 родов, 11 видов). К десяти ведущим семействам на территории хлебокомбината относятся: *Asteraceae* (21 видов - 20,59%), *Brassicaceae* (10 видов - 9,8%), *Poaceae* (10 видов - 9,8%), *Chenopodiaceae* (7 видов - 6,86%), *Fabaceae* (7 видов - 6,86%), *Polygonaceae* (6 видов - 5,88%), *Caryophyllaceae* (5 видов - 4,9%), *Boraginaceae* (4 вида - 3,92%), *Lamiaceae* (4 вида - 3,92%), *Apiaceae* (3 вида - 2,94%).

Высокая позиция семейств *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Fabaceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae* отражает общий процесс ослабления в урбанофлоре ее зональных черт, в городах умеренной зоны проявляющийся в смещении основных параметров в термоксерическом направлении и в сторону флор, сформировавшихся в экстремальных условиях.

Согласно анализу жизненных форм флоры комбината хлебопродуктов по К. Раункиеру во флоре в целом преобладают терофиты - 43,14% (44 вида).

Наиболее широко среди терофитов представлены виды семейства *Asteraceae* (7 видов из 21 – 33,33%), *Poaceae* (7 видов из 10 – 100%), *Chenopodiaceae* (7 видов из 7 – 100%). К ним относятся *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Fallopia convolvulus* и др. Устойчивость этих видов объясняется, во первых, коротким жизненным циклом. Во-вторых, накоплением банка семян в почве. В-третьих, разновременностью прорастания семян, благодаря чему часть растений начинает вегетировать уже после нарушения почвы. Второе место в спектре жизненных форм занимают гемикриптофиты – 40,2% (41 видов). Наиболее широко среди гемикриптофитов представлено семейство *Asteraceae* (8 видов из 21 – 38,09%): *Artemisia absinthium*,

Cirsium setosum, *Cichorium inthybus* и др. Эти многолетники способны к активному вегетативному размножению и восстановлению.

При анализе географической структуры в широтном градиенте было отмечено преобладание видов с плюризональным типом ареала 56 видов – 54,9%. В их числе *Berteroa incana*, *Convolvulus arvensis*, *Artemisia absinthium*, *Bromopsis inermis*, *Chenopodium album*. В основном к плюризональным видам относятся синантропные, рудеральные растения, распространение которых не зависит от природной зоны, а в первую очередь от антропогенного воздействия и нарушенности территории. Высока доля лесостепных видов (20 видов – 19,61%).

Среди долготных групп преобладают евроазиатские виды (51 вид – 50%), распространенные в Европе и Азии, и виды с распространением на евроазиатском и американском континентах: голарктические (38 видов – 37,25%). Виды с узкими ареалами – европейские и евросибирские составляют 1,96% соответственно (по 2 вида - *Achillea millefolium*, *Sisymbrium wolgensis*; *Astragalus danicus*, *Galium aparine*).

Анализ рудеральной флоры по происхождению и времени заноса показал, что представителями местной флоры, т.е. аборигенными видами, являются 41 вид (40,2%). Адвентивный компонент включает 61 вид (59,8%), на долю археофитов приходится 31,37% (32 вида) и неофитов – 28,43% (29 видов). Это объясняется современными процессами антропогенной эволюции растительности.

Среди адвентивных видов по способу заноса преобладают непреднамеренно занесенные виды – ксенофиты, на долю которых приходится 83,61% или 51 вид от всех адвентов. Доля видов, занесенных преднамеренно – эргазиофитов, составляет 16,39% (10 видов). Например, *Calendula officinalis*, *Helianthus annuus*, *Pisum sativum* и *Ulmus pumila*.

В фитосоциологическом спектре флоры преобладают виды следующих классов растительности:

Stellarietea mediae (44,12%) растительность начальных стадий сукцессий, *Artemisietae vulgaris* (19,61%) рудеральных сообществ с доминированием двулетних или многолетних видов. Также значительна доля класса вторичных лугов – *Molinio-Arrhenatheretea* (9,8%).

Изученная флора характеризуется большим разнообразием видов по ресурсному значению. На территории преобладают лекарственные растения (44 вида). Например, *Achillea millefolium*, *Calendula officinalis*, *Urtica dioica* и другие. Также было зарегистрировано 33 вида кормовых растений (*Bromopsis inermis*, *Helianthus annuus*, *Medicago falcata*), 24 медуносных (*Leonurus quinquelobatus*, *Stachys annua*), 14 ядовитых (*Chenopodium hybridum*, *Conium maculatum*, *Euphorbia virgate*) и 5 декоративных растений (*Iris germanica*, *Calendula officinalis*, *Centaurea cyanus*).

Таким образом, территория Стерлитамакского комбината хлебопродуктов является очагом концентрации заносных видов. Пути возможного распространения адвентивных видов растений являются железные дороги – каналы обмена видами между разными территориями, по которым заносятся диаспоры различных растений.

Список литературы

1. Тишков А. А. Смена парадигм в биогеографии // Изв. РАН. Сер. геогр., 1998. № 5. – С. 83-94.
2. Тишков А. А., Масляков В. Ю., Царевская Н. Г. Антропогенная трансформация биоразнообразия в процессе непреднамеренной интродукции организмов (биогеографические последствия) // Изв. РАН. Сер. геогр., 1995. № 64. – С. 74-85.
3. Чичев А.В. Адвентивная флора железных дорог Московской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985. 24с.
4. Элтон Ч. Экология нашествия животных и растений. – М.: Иностранная литература, 1960. – 229 с.

БИОХИМИЯ

Котова М.В.¹, Рябченко А.В.², Поляков Л.М.³

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I ЧЕЛОВЕКА В КОМПЛЕКСЕ С ЭСТРИОЛОМ НА БИОСИНТЕЗ ДНК В КУЛЬТУРЕ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС

¹аспирант лаборатории медицинской биотехнологии

Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Научно-Исследовательский Институт биохимии» Сибирского Отделения Российской Академии Медицинских Наук, г. Новосибирск;

²кандидат биологических наук,

старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии

Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Научно-Исследовательский Институт биохимии» Сибирского Отделения Российской Академии Медицинских Наук, г. Новосибирск;

³доктор медицинских наук, профессор,

руководитель лаборатории медицинской биотехнологии

Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Научно-Исследовательский Институт биохимии» Сибирского Отделения Российской Академии Медицинских Наук, г. Новосибирск

THE INFLUENCE OF RECOMBINANT APOLIPOPROTEIN A-I IN COMPLEX WITH HUMAN ESTRIOL ON DNA BIOSYNTHESIS IN HEPATOCYTE CULTURES OF RAT

Kotova Mariya Vladimirovna, Postgraduate of the Laboratory of Medical Biotechnology, Federal State-Funded Institution "Scientific-Research Institute of Biochemistry" Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Novosibirsk

Ryabchenko Aleksandr Vladimirovich, candidate of biological sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Medical Biotechnology, Federal State-Funded Institution "Scientific-Research Institute of Biochemistry" Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Novosibirsk

Polyakov Lev Mikhailovich, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Medical Biotechnology, Federal State-Funded Institution "Scientific-Research Institute of Biochemistry" Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Novosibirsk

АННОТАЦИЯ

В работе представлены материалы по получению рекомбинантного белка аполипопротеина А-I (apoA-I) человека в клетках *E.coli* и исследованию его способности влиять на скорость биосинтеза ДНК в комплексе с эстриолом в сравнении с природным нативным apoA-I человека. Рекомбинантный apoA-I был получен в виде химерного полипептида, с последующим превращением белка в зрелую форму apoA-I (rApoA-I). Комплекс rApoA-I-эстриол увеличивал скорость биосинтеза ДНК аналогично комплексу с природным apoA-I.

ABSTRACT

The paper presents the materials to obtain the recombinant protein of human apolipoprotein A-I (apoA-I) in *E.coli* cells and study its ability to affect the rate of biosynthesis of DNA complexed with estriol in comparison with the natural native human ApoA-I. Recombinant ApoA-I was obtained as a fusion polypeptide, followed by conversion to the mature form of the protein apoA-I (rApoA-I). Complex rApoA-I-estriol increased the rate of DNA biosynthesis of similar complexes with natural apoA-I.

Ключевые слова: рекомбинантный белок, аполипопротеин А-I, *E.coli*, гепатоциты, эстриол, биосинтез ДНК.

Keywords: recombinant protein, apolipoprotein A-I, *E.coli*, hepatocytes, estriol, DNA biosynthesis.

Аполипопротеин А-I является белком, входящим в состав липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) плазмы крови. ApoA-I находит применение при конструировании искусственных липосом, выполняя в них роль маркера для захвата клетками-мишенями, а также при реконструировании ЛПВП, используемых в экспериментальной терапии атеросклероза [2, с.43-44, с.47]. Исторически, первые методы выделения apoA-I были основаны на выделении белка из сыворотки крови. С появлением и развитием технологий рекомбинантных ДНК появились системы для получения рекомбинантного белка apoA-I в клетках бактерий, дрожжей, и клетках яичников китайского хомячка. Все они были направ-

лены на разработку систем с высоким выходом рекомбинантного апоА-I обладающего свойствами природного белка. **Целью** данной работы являлось получение зрелой формы рекомбинантного аполипопротеина А-I человека, исследование его биологических свойств, в сравнении с нативным белком, при взаимодействии белков с гормоном стероидной группы – эстриолом, а также изучение влияния комплексов «белок-гормон» на биосинтез ДНК в гепатоцитах крыс.

Материалы и методы. Рекомбинантная ДНК, содержащий зрелую форму белка апоА-I человека, была синтезирована фирмой ООО «Сервис-Ген» (Санкт-Петербург, Россия). Для клонирования рекомбинантной ДНК использовался вектор pET36b(+) («Novagene», США), хозяйские клетки – *E.coli* шт. BL21(DE3). Ферменты гидролиза и лигирования ДНК использовались ООО «СибЭнзим» (Новосибирск, Россия). Подтверждение корректности структуры рекомбинантной ДНК, кодирующей зрелую форму апоА-I в составе вектора pET36b(+) проводили с помощью секвенирования соответствующего района плазмиды в ЦКП «Геномика» СО РАН (г. Новосибирск, Россия).

Для выращивания *E.coli* использовалась классическая среда LB (lysogeny broth). Клетки культивировали при 37°C, индуцировали культуры добавлением изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ) до 0,1 мМ в логарифмической фазе роста. Анализ клеточных лизатов и белков проводили в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях по Лемлли.

Для выделения химерного рекомбинантного белка из клеток-продуцента использовали методику выделения белков в денатурирующих условиях предлагаемых фирмой производителем аффинного сорбента «Ni-NTA Superflow» («Qiagen», США), дополнительно клетки лизировали ультразвуком. Для удаления эндотоксинов в препарате рекомбинантного белка использовали смолу «Pierce High Capacity Endotoxin Removal Resin» («Thermo Fisher Scientific», США).

Рекомбинантный химерный апоА-I обессоливали диализом в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). После диализа к суспензии белка добавляли муравьиную кислоту до конечной концентрации 45%. Раствор белка выдерживали при 55°C в течение 4 ч при периодическом перемешивании, после чего белок снова обессоливали диализом в ФСБ. Затем белок осаждали центрифугированием (30 мин при 27000 g) с предварительным добавлением сульфата аммония до 40% насыщения. Осадок растворяли в буфере с мочевиной (6 М мочевины, 100 мМ NaH₂PO₄, 10 мМ Трис-НСl, pH 7,0). Далее белок отделяли от продуктов неполного гидролиза на смоле «Ni-NTA-Superflow». Фракцию, содержащую р_{апоА-I}, разбавляли до 1 о.е./мл буфером содержащим мочевины и обессоливали диализом в ФСБ. На заключительном

этапе раствор белка стерилизовали фильтрованием через насадки с порами 0,22 мкм («Syringe-Diven Filters», Jet Biofilm, Корея), хранили при 4°C, либо замораживали.

Выделение, очистку апоА-I из плазмы крови, определение константы связывания эстриола с белками проводили по методике, описанной в работе [1, с.64].

Выделение гепатоцитов проводили методом рециркуляторной ферментативной перфузии с использованием 0,03% раствора коллагеназы (активность > 125 ед/мг, «ICN Biomedicals, Inc», США) [3, с.10]. Жизнеспособность клеток, оцениваемая методом исключения трипанового синего («Serva», Германия), составляла не менее 90%. Культивирование клеток проводили в среде RPMI-1640 («Биолот», Россия), pH 7,4, содержащей 20 мМ HEPES, 10% эмбриональную сыворотку коров, 100 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл гентамицина, 5,6 мМ глюкозу. Инкубацию проводили в CO₂-инкубаторе («Cole-Parmer», США) в атмосфере, содержащей 5% CO₂ и 95% воздуха, при температуре 37°C, используя 24-луночные планшеты («Orange Scientific», США), покрытые коллагеном. Плотность клеток в первичной монослойной культуре составляла ~ 800 кл/мм².

Комплексы аполипопротеина А-I с эстриолом (апоА-I–эстриол) получали, выдерживая их смесь в молярном соотношении 1:2 в ФСБ в течение 5 мин при комнатной температуре. Комплексы апоА-I–эстриол, а также «свободные» белки и гормон (контроль) добавляли к культуре клеток на следующие сутки после выделения гепатоцитов. Концентрация апоА-I в среде инкубации составляла 40 мкг/мл, эстриола – 5×10⁻⁶ М. Скорость биосинтеза ДНК в культуре гепатоцитов определяли по включению ³H-тимидина («Amersham», Англия) в количестве 2 мКи/мл среды. Реакцию останавливали добавлением 0,2М раствора NaOH.

Статистическая обработка результатов производилась с помощью программы «StatPlus 2009 Professional». Статистическую значимость результатов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при уровне значимости p<0,05.

Результаты исследования.

Общеизвестно, что оптимизация кодонов «чужих» генов, экспрессируемых в клетках *E.coli*, в ряде случаев приводит к существенному увеличению количества синтезируемого рекомбинантного белка. Поэтому при конструировании модели рекомбинантной ДНК в структуре гена зрелой формы апоА-I человека мы сделали ряд синонимических замен кодонов с целью увеличения их частоты встречаемости в геноме *E.coli*. Из литературных данных известно, что для высокого уровня синтеза рекомбинантного белка апоА-I необходимо 6 аминокислотных остатков проформы белка апоА-I. Эти данные были учтены при конструировании рекомбинантной ДНК, с 5'-конца

были добавлены фрагменты ДНК кодирующие «лидерную последовательность»: 6 а.о. гистидина; 15 а.о. бычьей панкреатической РНКазы А; 6 а.о. проформы человеческого апоА-I; 7 а.о. сайта узнавания протеазы вируса табачной мозаики. На заключительном этапе к модели рекомбинантной ДНК с 5'-конца был добавлен сайт эндонуклеазы рестрикции NdeI, а с 3'-конца – сайт XhoI. Впоследствии по этим сайтам осуществляли переклонирование рекомбинантной ДНК в состав экспрессирующего вектора рЕТ36b(+).

Для отщепления лидерной последовательности и превращения химерного рекомбинантного белка в зрелую форму апоА-I, во второй позиции зрелой формы белка был заменен кодон кодирующий глутаминовую аминокислоту на аспарагиновую кислоту (Glu2Asp). Это привело к возникновению в структуре химерного белка апоА-I не устойчивого к кислотам дипептида Asp-Pro.

В результате реализации экспрессии модели рекомбинантной ДНК, содержащей мутантный ген зрелой формы апоА-I человека, в составе экспрессирующего вектора рЕТ36b(+) в клетках *E.coli* шт. BL21(DE3) был получен полипептид с молекулярной массой ~ 33,0 кДа. Выход химерного рекомбинантного апоА-I в лабораторных условиях (выращивание и инкубация клеток в колбах на шейкере) составлял: при инкубации клеток 4 ч при 37°C – 140±20 мг/л культуры клеток, что больше на 40% по сравнению с работой [4, с.101], где использовалась аналогичная экспрессирующая система (клетки *E.coli* шт. BL21(DE3) и ген апоА-I под контролем промотора гена 10 бактериофага Т7); при инкубации клеток 18 ч при 30°C – 180±30 мг/л.

Выход очищенного белка зрелой формы апоА-I (без лидерной последовательности) составлял ~ 50 мг с литра культуры клеток или ~ 35 мг из 100 мг исходного химерного рекомбинантного апоА-I. Чистота белка по данным анализа в полиакриламидном геле составляла не менее 95%. Полученный белок с молекулярной массой ~ 28 кДа не имел двух аминокислотных остатков с N-конца (аспарагиновая и глутаминовая кислоты), в остальном по первичной структуре он был аналогичен зрелой форме белка апоА-I человека.

Ранее в литературе было показано, что апоА-I в комплексе со стероидными гормонами, тетрагидрокортизолом, способен усиливать биосинтез ДНК в гепатоцитах [1, с.63, с.65]. Принципиально важную роль в этом процессе играет восстановленная Δ^4 -3-кетогруппа кольца А стероидных гормонов. Поэтому на следующем этапе работ мы исследовали способность полученного нами ρ апоА-I усиливать биосинтез ДНК в гепатоцитах. В качестве гормона был выбран эстриол, который также в положении Δ^4 -3-кетогруппы кольца А имеет восстановленную ОН-группу.

Методом тушения триптофановой флуоресценции, показано взаимодействие апоА-I и ρ апоА-I с

эстриолом. Снижение флуоресценции составило примерно 80% для обоих белков. Данное снижение можно расценивать как результат образования комплекса апоА-I–эстриол. На основании кривых тушения флуоресценции рассчитана константа ассоциации при взаимодействии апоА-I и ρ апоА-I с эстриолом, которые составили $2,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ и $2,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, соответственно. Рассчитано количество молекул эстриола, которое может быть связано апоА-I, оно составило примерно 67 молекул гормона на 1 молекулу апоА-I. Порядок констант связывания гормона с природным апоА-I и полученным нами ρ апоА-I, а также совпадение пиков максимального поглощения этих белков подтверждают функциональное сходство ρ апоА-I с природным белком.

Показано, что добавление в среду инкубации комплекса апоА-I–эстриол и ρ апоА-I–эстриол уже через 5 ч усиливало биосинтез ДНК в культуре гепатоцитов крыс на 82% и 74,4%, соответственно. Тогда как в группе с изолированным апоА-I и ρ апоА-I данные по включению ^3H -тимидина были на уровне контрольных значений. Несмотря на то, что эстриол является гормоном с выраженными анаболическим эффектом, добавление его в среду инкубации не оказывало влияния на усиление биосинтеза ДНК. Полученные нами данные показывают, что апоА-I в комплексе с эстриолом, как одного из представителей группы стероидных гормонов, стимулирует синтез ДНК в гепатоцитах. Эти результаты хорошо согласуются с опубликованными ранее данными с использованием другого гормона стероидной группы – тетрагидрокортизола [1, с.65]. Близкие значения по скорости увеличения биосинтеза ДНК в клетках печени при добавлении комплексов ρ апоА-I–эстриол и апоА-I–эстриол, подтверждают функциональную идентичность полученного нами рекомбинантного белка зрелой формы (ρ апоА-I) с нативным апоА-I человека.

Выводы.

В результате выполненной работы на основе клеток *E.coli* был получен продуцент рекомбинантного аполипопротеина А-I человека с высоким выходом белка 180±30 мг/л. Полученный ρ апоА-I в экспериментах по усилению биосинтеза ДНК на гепатоцитах крыс проявлял идентичные свойства природному апоА-I человека. Добавление комплекса апоА-I–эстриол усиливало биосинтез ДНК в гепатоцитах крыс на ~ 80%.

Литература.

1. Панин Л.Е., Князев Р.А., Суменкова Д.В., Гуца Р.С., Поляков Л.М. 2007. Роль аполипопротеина Е в регуляции биосинтеза белка и нуклеиновых кислот в культуре гепатоцитов крыс. Бюл. СО РАМН. Т. 127. № 1. 63-66.
2. Поляков Л.М., Панин Л.Е. 2013. Липопротеины высокой плотности и аполипопротеин А-I: регуляторная роль и новые терапевтические стратегии лечения атеросклероза. Атеросклероз. Т.9. №1. 42-53.

3. Panin L.E., Gimautdinova O.I., Kuznetsov P.A., Tuzikov F.V. 2011. The Mechanism of Interacting Biologically Active Complexes Dehydroepiandrosterone- or Tetrahydrocortisol-Apolipoprotein A-I with DNA and their Role in Enhancement of Gene Expression and Protein Biosynthesis in Hepatocytes. *Current Chemical Biology*. V.5. №1. 9-16.
4. Ryan R.O., Forte T.M., Oda M.N. 2003. Optimized bacterial expression of human apolipoprotein A-I. *Protein Expr. and Purif.* V.27. 98–103.

Шахристова Е.В.¹, Степовая Е.А.², Носарева О.Л.³, Рязанцева Н.В.⁴

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

¹кандидат медицинских наук, руководитель, Научно-образовательного центра молекулярной медицины, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

²доктор медицинских наук, профессор, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

³кандидат медицинских наук, доцент, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

⁴доктор медицинских наук, профессор, Национальный исследовательский Томский Государственный университет, г. Томск

OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN BREAST EPITHELIAL CELLS UNDER INDUCED OXIDATIVE STRESS

Shakhristova Evgenija, Candidate of Science, head of the laboratory of molecular medicine of Siberian state medical university, Tomsk

Stepovaya Elena, Doctor of Science, professor of Siberian state medical university, Tomsk

Nosareva Olga, Candidate of Science, assistant professor of Siberian state medical university, Tomsk

Ryazantseva Natal'ja, Doctor of Science, professor of, National research Tomsk state university, Tomsk

АННОТАЦИЯ

ЦЕЛЬ. Идентификация влияния активных форм кислорода на уровень окислительной модификации белков в клетках эпителия молочной железы. **МЕТОДЫ.** Оценивали содержание активных форм кислорода, величину отношения восстановленной и окисленной форм глутатиона, уровень окислительной модификации белков в интактных клетках линии HBL-100 и в присутствии пероксида водорода (0,3 мМ). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Развитие окислительного стресса в клетках линии HBL-100 приводило к увеличению продукции активных форм кислорода, повышению содержания карбонильных производных белков, битирозина и окисленного триптофана, снижению редокс-потенциала клеток по сравнению с интактными культурами. **ВЫВОДЫ.** Увеличение уровня окислительной модификации белков и снижение редокс-статуса в эпителиальных клетках при действии пероксида водорода, может являться одним из универсальных механизмов нарушения функциональных свойств протеинов, в частности ферментов, при патологиях, сопровождающихся окислительным стрессом, что позволит использовать эту модель для установления молекулярных механизмов нарушений пролиферации и апоптоза клеток в условиях свободнорадикального окисления.

ABSTRACT

BACKGROUND. Identification of the influence of reactive oxygen species on the level of oxidative modification

of proteins in breast epithelial cells. **METHODS.** Estimated concentration of reactive oxygen species, the ratio of reduced and oxidized forms of glutathione, the level of oxidative modification of proteins in untreated and hydrogen peroxide (0.3 mM)-treated HBL-100 line cells. **RESULTS.** The development of oxidative stress in HBL-100 line cells resulted in increased production of reactive oxygen species, increase in the content of carbonyl derivatives of proteins, butyrosine and oxygenated tryptophan, reducing the redox potential of cells compared to untreated cultures. **CONCLUSIONS.** The increase in oxidative modification of proteins and reduction of the redox status in the epithelial cells under the action of hydrogen peroxide, may be one of the universal mechanisms of disorders of the functional properties of proteins, in particular enzymes, in pathologies involving oxidative stress, which will allow to use this model to establish the molecular mechanisms of disorders of cell proliferation and apoptosis in conditions of free radical oxidation.

Ключевые слова: клетки эпителия молочной железы; карбонильные производные белков; битирозин; окисленный триптофан.

Keywords: breast epithelial cells; carbonyl derived protein; butyrosine; oxygenated tryptophan.

Развитие окислительного стресса при ряде патологий (онкологические, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые и др.) обусловлено резкой интенсификацией процессов свободно-радикального окисления и/или снижением резерва антиоксидантной защиты, что приводит к значительному накоплению активных форм кислорода (АФК) [1, 2, 3, 4, 5]. Последние вызывают окислительную модификацию белковых и липидных молекул, повреждение ДНК, нарушение структуры мембран и др. [1, 2, 4]. АФК могут регулировать различные клеточные функции, а изменения редокс-статуса клеток при различных стрессовых воздействиях оказывают влияние на активность факторов транскрипции и экспрессию ряда

генов как при адаптивной реакции клеток в экстремальных условиях, так и при развитии патологических процессов [1, 2, 4, 6]. В результате этого происходит изменение регуляции клеточного гомеостаза – пролиферации, дифференцировки, апоптоза, а также нарушение функциональных свойств клетки [2, 4, 6]. В различных типах эпителиальных клеток реализуются свободнорадикальные процессы, лежащие в основе патогенеза заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом. Моделирование развития свободнорадикальных процессов в эпителиальных клетках молочной железы может быть использовано для установления роли редокс-белков и системы глутатиона в регуляции пролиферации и апоптоза клеток.

Данное исследование направлено на идентификацию влияния активных форм кислорода на уровень окислительной модификации белков в клетках эпителия молочной железы.

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования была использована культура клеток эпителия молочной железы человека (HBL-100), полученная из Российской коллекции клеточных культур института цитологии Российской академии наук (г. Санкт-Петербург). Культивирование клеток линии HBL-100 проводили адгезионным методом в полной питательной среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Invitrogen», США), 0,3 мг/мл L-глутамина («ПанЭко», Россия) и 100 мкг/мл гентамицина («INS», США) при температуре 37°C и 5% CO₂. Индукция окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы достигалась путем добавления H₂O₂ в конечной концентрации 0,3 мМ.

Для оценки интенсивности окислительного стресса при индукции H₂O₂ свободнорадикального окисления в клетках линии HBL-100 проводили исследования уровня активных форм кислорода (АФК)

методом проточной цитофлуориметрии с 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетатом («Sigma Aldrich», США) [7] и величины отношения восстановленной формы глутатиона к окисленной (GSH/GSSG) методом, предложенным I. Rahman и соавт. (2006) [8].

Интенсивность окислительной модификации белков (ОМБ) в интактных клетках эпителия молочной железы и при действии H₂O₂ оценивали по концентрации карбонильных производных аминокислотных остатков, содержанию окисленного триптофана и образованию битиризиновых сшивок. Концентрацию карбонилированных белков определяли спектрофотометрическим методом, основанном на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином [9]. Определение содержания окисленного триптофана (по снижению флуоресценции его восстановленной формы) и образованию битиризиновых сшивок проводили методом, описанным K.J. Davies [10].

При оценке полученных данных использовали методы статистического описания и проверки статистических гипотез с применением программы SPSS 11.0 for Windows. Вычисляли средневыворочные характеристики: медиана (Me), первый и третий квартили (Q₁-Q₃). Достоверность различий независимых выборок оценивали с помощью непараметрического критерия для малых групп Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных нами исследований было установлено, что H₂O₂ в конечной концентрации 0,3 мМ вызывает увеличение ($p < 0,01$) интенсивности флуоресценции эпителиальных клеток молочной железы, нагруженных 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетатом, по сравнению с интактными клетками линии HBL-100 (рис. 1). В тоже время величина GSH/GSSG в клетках линии HBL-100 на фоне добавления H₂O₂ снижалась ($p < 0,01$) по сравнению с интактной культурой (рис. 1).

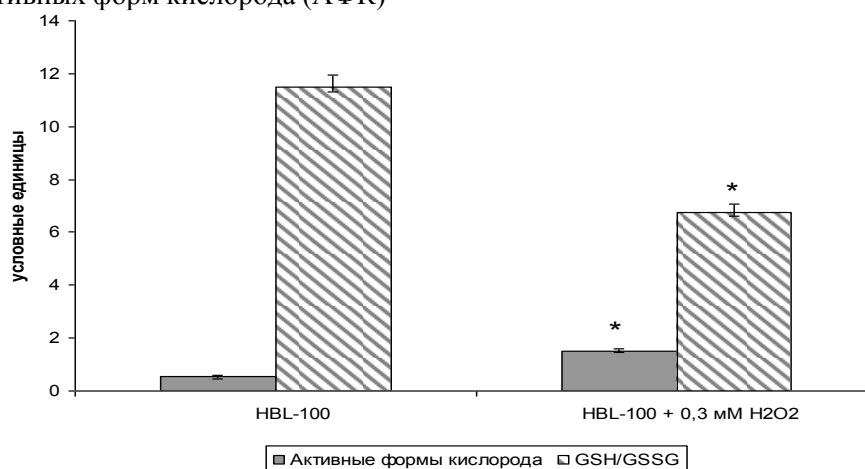


Рисунок 1. Содержание активных форм кислорода и значение величины отношения восстановленного глутатиона к окисленному в интактных клетках эпителия молочной железы линии HBL-100 и в условиях культивирования с пероксидом водорода (* – $p < 0,01$, уровень значимости различий по сравнению с показателями интактных клеток HBL-100).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в эпителиальных клетках молочной железы под действием H₂O₂ развивается окислительный стресс, сопровождающийся наработкой АФК и снижением редокс-потенциала.

В клетках линии HBL-100, инкубированных с 0,3 мМ H₂O₂, нами выявлено повышение уровня ОМБ. При длине волны 274 нм регистрируются аль-

дегидфенилгидразоны – ранние маркеры окислительной деструкции белков, при 363 нм – кетондинитрофенилгидразоны, являющиеся маркерами поздней деструкции белков. Так, на фоне индукции окислительного стресса в эпителиальных клетках молочной железы выявлено увеличение ($p < 0,01$) карбонильных производных при длинах волн 274 нм и 363 нм по сравнению с уровнем ОМБ в интактных клетках (рис. 2).

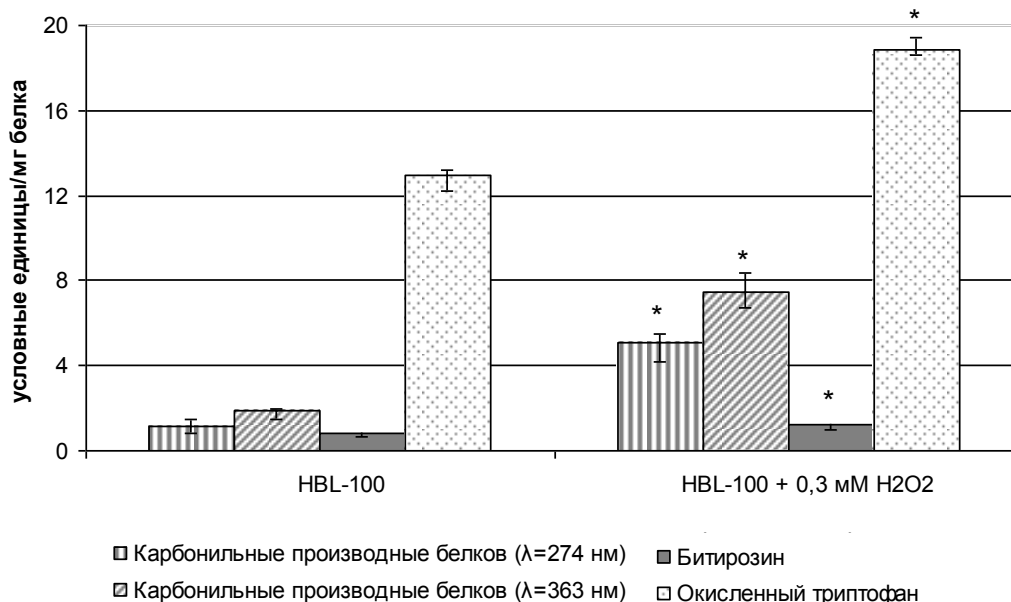


Рисунок 2. Показатели окислительной модификации белков в интактных клетках эпителия молочной железы линии HBL-100 и при индукции свободнорадикального окисления

(* – $p < 0,01$, уровень значимости различий по сравнению с показателями интактных клеток HBL-100).

Окислительная модификация белковых молекул с образованием карбонильных производных – необратимый процесс, репарации могут подвергаться лишь окисленные SH-группы протеинов [11]. Карбонилированные белки образуют агрегаты, а также фрагментируются. Химическая модификация полипептидной цепи под действием АФК проявляется, в том числе, и в изменении функциональных групп аминокислотных остатков протеинов. Так, нами было обнаружено увеличение содержания битирозина и окисленного триптофана в клетках линии HBL-100, инкубированных с 0,3 мМ H₂O₂ (рис. 2). Окисление триптофана сопряжено с образованием ковалентных сшивок, приводящих к агрегации белков [11]. Образующиеся при окислении тирозина радикалы могут взаимодействовать между собой, формируя битирозиновые межмолекулярные сшивки протеинов, что, в конечном счете, приводит к снижению или утрате их биологической функции. Увеличение ОМБ, наряду со снижением редокс-баланса, является ранним маркером окислительного повреждения эпителиальных клеток молочной железы, при котором белки выступают в роли эффективных ловушек генерируемых АФК [11].

Заключение. Индукция окислительного стресса *in vitro* пероксидом водорода (0,3 мМ) в эпителиальных клетках молочной железы приводила к

активации свободнорадикального окисления, сопровождающегося продукцией АФК, окислительной модификацией белков и снижением величины отношения восстановленной формы глутатиона к окисленной. Повышенная окислительная модификация белков и снижение редокс-статуса клеток может являться одним из универсальных механизмов нарушения функциональных свойств белков, в частности ферментов, при социально-значимых патологиях различного генеза, сопровождающихся окислительным стрессом (онкологические, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые патологии и др.), что позволит использовать эту модель для установления молекулярных механизмов нарушений пролиферации и апоптоза клеток в условиях свободнорадикального окисления.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (договор № 4184.2014.7-НШ)

Список литературы:

1. Октябрьский О. Н., Смирнова Г. В. 2007. Редокс-регуляция клеточных функций. Биохимия. 72 (2): 158-174.

2. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Ланкин В. З., Бондарь И. А., Труфакин В. А. 2008. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск. 284 с.
3. Степовая Е. А., Петина Г. В., Жаворонок Т. В., Рязанцева Н. В., Иванов В. В., Агеева Т. С., Тетенов Ф. Ф., Новицкий В. В. 2010. Роль тиол-дисульфидной системы в механизмах изменений функциональных свойств нейтрофилов при окислительном стрессе. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 8: 161-165.
4. Halliwell B. 2012. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev. 70 (5): 257-265.
5. Ray P. D., Huang B. W., Tsuji Y. 2012. Reactive oxygen species homeostasis and redox regulation in cellular signaling. Cell Signal. 24 (5): 981-990.
6. Droge W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. Physiological Reviews. 82 (1): 476-485.
7. Halliwell B., Whiteman M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? British J. Pharmacol. 142: 231-255.
8. Rahman I., Kode A., Biswas S. K. 2006. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. Nat. Protoc. 1 (6). 3159-3165.
9. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбин Н. Н. 2000. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. Санкт-Петербург, 103 с.
10. Davies K. J. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. 1. General aspects. J. Biol. Chem. 262: 9895-9901.
11. Дубинина Е. Е. 2006. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. Санкт-Петербург, 400 с.

Твердохлеб Н.В.¹, Князев Р.А.², Поляков Л.М.³

ВЛИЯНИЕ АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I В КОМПЛЕКСЕ С АКТИНОМИЦИНОМ Д НА БИОСИНТЕЗ ДНК В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

¹ научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт биохимии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск

² кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт биохимии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск

³ доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории медицинской биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт биохимии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Новосибирск

INFLUENCE APOLIPOPROTEIN A-I IN COMPLEX WITH ACTINOMYCIN D ON BIOSYNTHESIS DNA IN EHRLICH ASCITES CARCINOMA CELLS

Tverdokhleba Nataliya Viktorovna, Research Assistant, Institute of Biochemistry, Siberian Division, Russian Academy of Medical Science, Novosibirsk

Knyazev Roman Alexandrovich, Candidate of Biological Science, Senior Researcher, Institute of Biochemistry, Siberian Division, Russian Academy of Medical Science, Novosibirsk

Polyakov Lev Mikhailovich, Doctor of Medical Science, Professor, Institute of Biochemistry, Siberian Division, Russian Academy of Medical Science, Novosibirsk

АННОТАЦИЯ

Разработка новых транспортных систем доставки лекарственных препаратов имеет принципиально важное значение для повышения эффективности лечения ряда заболеваний. В последнее время все чаще в качестве

переносчиков используют естественные системы доставки. В данной работе показана возможность использования белкового компонента липопротеинов плазмы крови аполипопротеина А-I выступать в качестве транспортной формы актиномицина Д.

ABSTRACT

The development of new transport systems of drug delivery is crucial to improve the effectiveness of treatment of diseases. In recent times as carriers use natural delivery systems. This paper shows the possibility of using the protein component of blood plasma lipoprotein apolipoprotein A-I act as a transport form of actinomycin D.

Ключевые слова: аполипопротеин А-I, противоопухолевые препараты, биосинтез ДНК, транспорт лекарственных препаратов, канцерогенез.

Keywords: apolipoprotein A-I, anticancer drugs, DNA biosynthesis, drug delivery, carcinogenesis.

Липопротеины и их белковые компоненты являются уникальной транспортной формой соединений различной природы, в том числе, стероидных гормонов, ксенобиотиков и лекарственных препаратов [3, с 23]. Ранее было показано, что применение липопротеинов высокой плотности в качестве транспортной формы противоопухолевого лекарственного препарата даунорубицина приводило к увеличению эффективности цитостатического действия в отношении клеток НА-1 гепатомы мышей [5, с 32]. Установлено, что при комплексообразовании липопротеинов с биологически активными веществами принимают участие белковые компоненты липопротеинов. Основным белковым компонентом является аполипопротеин А-I [4, с 313].

Таким образом, целью данного исследования было изучение влияния аполипопротеина А-I в комплексе с актиномицином Д на биосинтез ДНК в культуре асцитной карциномы Эрлиха.

Выделение липопротеинов из плазмы крови человека проводили методом ультрацентрифугирования в растворах КВг в присутствии 3 мМ ЭДТА- Na_2 [8, с 362]. Фракцию липопротеинов высокой плотности (ЛПВП, $1,063 < d < 1,21$ г/мл) делипидировали смесью хлороформ-метанол (1:1) с многократной отмывкой эфиром. Смесью белков разделяли методом колоночной хроматографии, элюент: 6 М мочевины, 0,01% азид натрия и 1 мМ фенилметансульфонилфторид. Проверка чистоты аполипопротеина А-I осуществлялась с помощью электрофореза в ПААГ с додецилсульфатом Na (SDS Na) [7, с 680]. Обессоливание белка проводили методом гель-фильтрации. В качестве элюента использовали 5 мМ трис- HCl буфер, pH 7,4, содержащий 0,15 М NaCl .

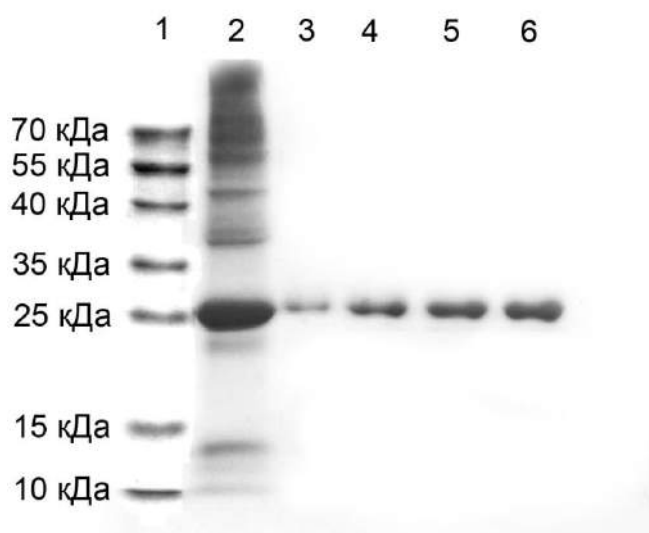


Рис. 1. Электрофореграмма хроматографической очистки аполипопротеина А-I.

1 – низкомолекулярные белки-стандарты;
2 – суммарные белки ЛПВП;
3-6 – стадии очистки апоА-I.

В работе использовали 1 мМ раствор актиномицина Д. Взаимодействие апоА-I с актиномицином Д изучали методом спектрофлуориметрии при длине волны возбуждения 285 нм и эмиссии в диапазоне от 300 до 600 нм. Титрование проводили добавлением аликвот противоопухолевого препарата (по 20 мкл) к 2 мл аполипопротеина А-I. Расчет константы связывания осуществляли по методу Аттала и Лата [6, с 325].

Эксперименты проводили на клетках асцитной карциномы Эрлиха. Выделение клеток из перитонеального экссудата проводили на 10 день после перевивания. Под легким эфирным наркозом мышей забивали с помощью дислокации шейных позвонков, вскрывали брюшную полость в нижнем латеральном

отделе. Собирали перитонеальный экссудат и вносили в центрифужные пробирки. Центрифугировали в течение 10 мин при 150g для осаждения клеточных элементов. Осадок клеток трижды промывали большими объемами холодного раствора Рингера-Кребса. Подсчет клеток проводили в камере Горяева. Жизнеспособность клеток оценивали по исключению трипанового синего [1, с 270].

Результаты. Методом тушения триптофановой флуоресценции показано взаимодействие аполипопротеина А-I с актиномицином Д. Снижение флуоресценции составило 73%. Данное снижение можно расценивать как результат образования комплекса аполипопротеин А-I–актиномицин Д (рис.2).

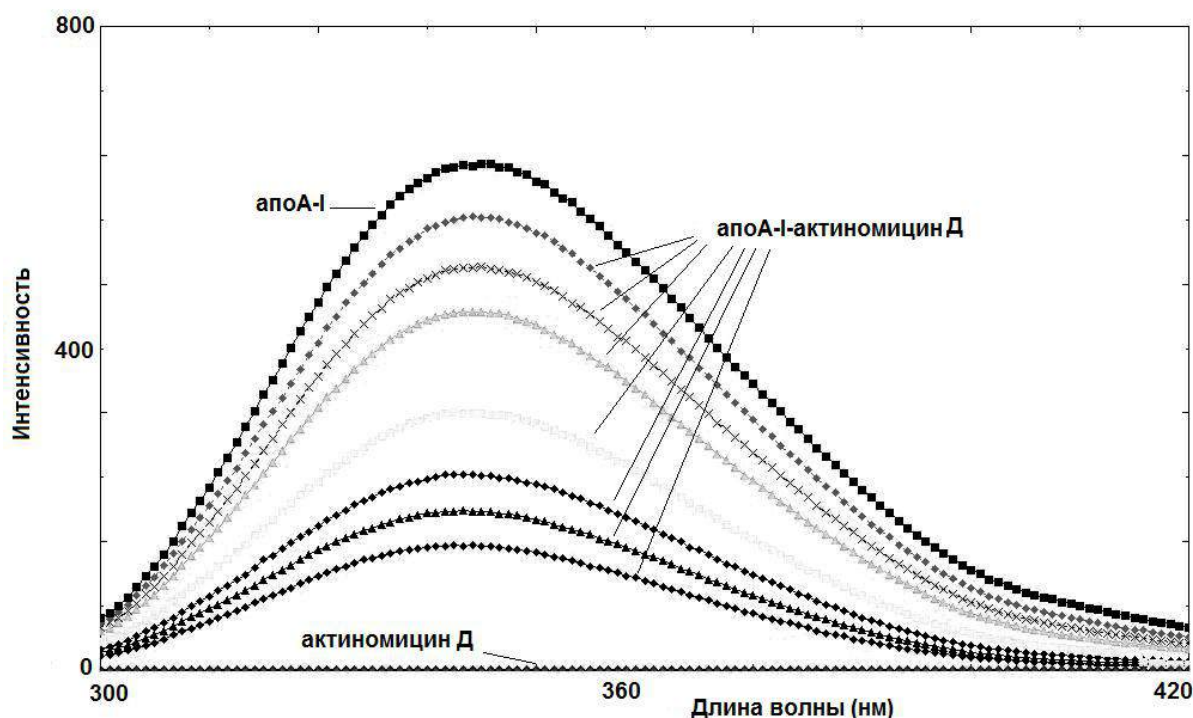


Рис. 2. Спектры триптофановой флуоресценции аполипопротеина А-I в комплексе с актиномицином Д.

На основании кривых тушения флуоресценции при титровании рассчитана константа ассоциации при взаимодействии аполипопротеина А-I с актиномицином, которая составила $1,4 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Количество молекул актиномицина Д, которое может быть связано аполипопротеином А-I составило 12 молекул цитостатика на 1 молекулу белка.

Добавление в инкубационную среду с клетками асцитной карциномы комплекса аполипопро-

теин А-I-актиномицин Д в концентрации 0,1 мкг цитостатика на мл среды снижало биосинтез ДНК на 60% по сравнению с контрольной группой (рис. 3). Добавление в данной концентрации “чистого” актиномицина Д оказывало небольшое ингибирующее действие на скорость включения ^3H -тимидина, однако это снижение не имело достоверного отличия по сравнению с контролем.

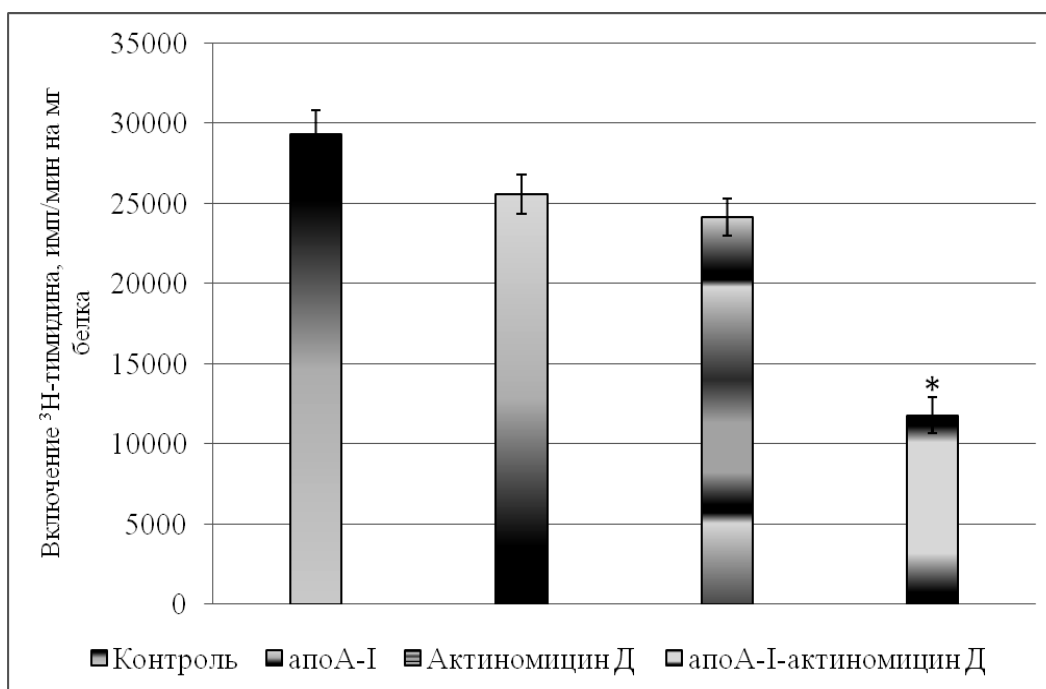


Рис. 3. Изменение скорости биосинтеза ДНК в клетках карциномы Эрлиха
* - достоверное различие по сравнению с контролем ($p < 0,01$).

Таким образом, использование в качестве переносчика цитостатиков аполипопротеина А-I позволяет на порядок снизить концентрацию противоопухолевого препарата по сравнению с рекомендованными данными из литературы [2, с 103]. Можно сделать вывод об эффективности использования аполипопротеина А-I в качестве транспортного средства для доставки актиномицина Д в клетки опухолей.

Литература:

1. Конки Д., Эрба Э., Фрешни Р., Гриффитс Б., Хэй Р., Ласнитски И., Маурер Г., Мораска Л., Вилсон Э. Культура животных клеток. Методы. 1989. М.: Мир., 333 с.
2. Кузнецова Т.В., Шевелев Б.И., Керученко Я.С., Шевелев А.Б. Новая тест-система для количественного определения содержания TNF- α в образцах крови человека. 2008. Вестн. Моск. ун-та. 49(2): 102-107.
3. Поляков Л.М. Липопротеины плазмы крови: транспортная система для ксенобиотиков и биологически активных веществ. 1998. Бюл. СО РАМН. 3: 23-29.
4. Поляков Л.М., Суменкова Д.В., Князев Р.А., Панин Л.Е. Анализ взаимодействия липопротеинов и стероидных гормонов. 2011. Биомедицинская химия. 57(3): 308-313.
5. Суменкова Д. В., Поляков Л.М., Панин Л.Е. 2012. Липопротеины высокой плотности как транспортная форма даунорубицина в клетки гепатомы мышей. Экспериментальная и клиническая фармакология. 75(5): 32-34.
6. Attalah N.A., Lata G.F. Steroid-protein interactions studied by fluorescence quenching. 1968. Biochem. Biophys. Acta. 168(2): 321-333.
7. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. 1970. Nature. 227: 680-685.
8. Polyakov L.M., Sumenkova D.V., Knyazev R.A., Panin L.E. The analysis of interaction lipoproteins and steroid hormones. 2010. Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry. 4(4): 362 – 365.

ЭКОЛОГИЯ (ПО ОТРАСЛЯМ)

Артамонов Г.Е.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ДЛЯ РАСЧЁТА ИНДЕКСА ВОЗДЕЙСТВИЯ АЭС И ГЭС НА ЭКОСИСТЕМЫ

аспирант кафедры экологического мониторинга и прогнозирования, Российский Университет Дружбы
Народов, г. Москва

BIOLOGICAL RESOURCES FOR THE ESTIMATION IMPACT ON ECOSYSTEMS FOR NUCLEAR AND HYDRO POWERPLANTS

Artamonov Grigoriy, post graduate student of department
environmental monitoring and forecasting People's
Friendship University of Russia, Moscow

АННОТАЦИЯ

Для размещения и хозяйственной деятельности объектов энергетики используются биологические ресурсы. В данной работе рассматривается влияние хозяйственной деятельности атомных электростанций и гидроэлектростанций на окружающую среду, приводятся результаты расчета индекса воздействия электростанций на экосистемы для действующих АЭС и 10 крупнейших ГЭС России.

Ключевые слова: АЭС, ГЭС, биологические ресурсы, моделирование, объекты энергетики, экология, экосистема.

SUMMARY

For economic activity of energy facilities the biological resources are being used. This study examines the impact of nuclear power plants and hydroelectric power plants on the environment, the results of the impacts estimation on ecosystems are given for nuclear power plants and 10 largest hydropower plant in Russia.

Key words: nuclear, hydro, biological resources, modeling, energy facilities, ecology, ecosystem.

Экосистемы России обладают значительным энергетическим потенциалом. В основу развития инфраструктуры энергоснабжения страны заложено её географическое положение.

Условия социально-экономического развития регионов РФ требуют проведения научных исследований по оценке хозяйственной деятельности объектов энергетики, экологической безопасности и моделированию их воздействия на окружающую среду.

Оценка деятельности АЭС и ГЭС на территориях страны с разным экологическим потенциалом представляет собой важную задачу территориального планирования в области энергетики для целей организации эффективной и экологически безопасной инфраструктуры энергоснабжения и рационального использования природных ресурсов.

Задача заключается в систематизации информации о деятельности объектов энергетики на экосистемной основе с описанием характеристик, присутствующих определенным группам объектов. Классификация объектов энергетики должна основываться не только на обобщении массового материала, но и на сравнении результатов их хозяйственной деятельности на экосистемной основе.

Научное значение обобщения информации о деятельности объектов энергетики на территории РФ заключается в формировании методического материала для целей стратегического планирования, градостроительства и планировки территории земельного участка.

Объекты атомной энергетики и гидроэнергетики играют важную роль в энергообеспечении крупных промышленных узлов России, а также формируют условия определяющие качество состояния окружающей природной среды. Выработка электроэнергии на данных видах электростанций обеспечивает ежегодную экономию топлива и позволяет снижать выбросы CO₂ в атмосферу. Однако в результате хозяйственной деятельности АЭС и ГЭС также оказывается разнообразное воздействие на экосистемы.

Для осуществления хозяйственной деятельности объектов энергетики используется значительное количество биологических ресурсов [1]. При размещении производственных комплексов АЭС, полигонов радиоактивных отходов, прудов-охладителей, трансформаторных подстанций и линий электропередач происходит изъятие природных экосистем с последующей утерей своих функций. Специфика деятельности атомных электростанций предусматривает наличие 30-ти километровой зоны наблюдения с особым правовым режимом.

Для охлаждения технологического оборудования АЭС происходит забор воды из наземных и подземных источников. Для АЭС характерно тепловое загрязнение водоемов, кроме того в сбрасываемых водах содержатся радионуклиды. Одним из техногенных факторов воздействия является образование жидких и твердых радиоактивных отходов.

При строительстве ГЭС происходит затопление огромной площади территорий, в том числе предназначенной и для сельскохозяйственного производства. ГЭС наносят ущерб не только сельскому хозяйству, но и рыболовному промыслу нарушая биологические процессы у водных организмов.

Водоохранилища, образуемые при строительстве ГЭС, способствуют изменению климата, повышают влажность воздуха, изменяют ветровой режим в прибрежной зоне, температурный и ледяной режим водостока, нарушают биогеохимический круговорот веществ, снижая тем самым устойчивость экосистем. Это приводит к изменению природных условий, что сказывается на хозяйственной деятельности человека и жизнедеятельности животных.

Расположение электростанций осуществляется на территориях с разным экологическим потенциалом, что вносит свою специфику в степень оказываемого объектами энергетики воздействия на окружающую среду [3].

АЭС расположены в основном на территориях с наивысшим и относительно высоким экологическим потенциалом, благоприятными и относительно благоприятными условиями жизни населения: Балаковская, Белоярская, Калининская, Курская, Ленинградская, Нововоронежская и Смоленская (табл. 1).

Экосистемы, в которых расположены указанные АЭС, характеризуются высокими показателями продуктивности фитомассы, что указывает на нераскрытый потенциал данных территорий в области сельского хозяйства [3].

Крупнейшие ГЭС России, как правило, расположены на территориях с менее благоприятными условиями для жизни: Братская, Волжская, Красноярская, Саяно-Шушенская и Усть-илимская ГЭС.

В данной работе произведён расчёт индекса воздействия объектов энергетики на экосистемы (En) по следующей формуле:

$$En = 10 \cdot \sqrt{\frac{W^2}{S}} \quad (1)$$

Где, W – показатель установленной мощности электростанции, МВт; S – площадь территории, км².

На основе данных ОАО «Концерн Росэнергоатом» и ОАО «Русгидро» произведён расчёт индекса (En) для 10 действующих атомных электростанций и 10 крупнейших гидроэлектростанций России (табл. 1) [5-6].

Наибольшие значения суммарного индекса у Балаковской, Ленинградской и Смоленской АЭС, Братской, Красноярской и Саяно-Шушенской ГЭС. Указанные электростанции характеризуются наибольшей установленной мощностью и производственными показателями.

Коэффициенты корреляции между установленной мощностью и общей площадью используемых экосистем для АЭС и ГЭС показывают следующие значения соответственно: r = 0,54 и 0,19.

Сравнительный анализ усреднённых показателей исследуемых АЭС и ГЭС указывает на особенности целевого назначения данных объектов, предназначенных в основном для энергоснабжения крупных промышленных предприятий, энергоснабжение населения является вторичной функцией (табл. 2).

Средний показатель установленной электрической мощности выше у ГЭС, в то время как годовая выработка электроэнергии у АЭС. Средний показатель коэффициента используемой установленной мощности электростанции составляет 80 % для АЭС и 45 % для ГЭС, что указывает на более высокий уровень технологической дисциплины в атомной энергетике.

Совокупная площадь используемых экосистем, включая площадь: промплощадок, водоемов, трансформаторных подстанций и ЛЭП выше у АЭС. Суммарный Индекс воздействия объектов энергетики на экосистемы выше для ГЭС.

Таблица 1

Результаты расчёта индекса воздействия станций, распределительных подстанций и ЛЭП на экосистемы

Название	Индекс воздействия объектов энергетики на экосистемы (En)				Экологический потенциал территории
	Станция	Подстанция	ЛЭП	Суммарный индекс	
АЭС					
Балаковская	33,81	4,25	1,96	13,34	7
Калининская	23,89	3,11	1,48	9,49	4
Курская	17,75	3,89	2,03	7,89	3
Ленинградская	27,95	3,78	3,17	11,63	6
Смоленская	28,35	4,32	1,62	11,43	3
Ростовская	12,51	1,94	0,94	5,13	9
Нововоронежская	14,56	1,89	0,83	5,76	3
Кольская	15,99	4,07	1,70	7,25	10

Название	Индекс воздействия объектов энергетики на экосистемы (En)				Экологический потенциал территории
	Станция	Подстанция	ЛЭП	Суммарный индекс	
Белоярская	2,18	1,32	0,58	1,36	4
Билибинская	0,82	0,64	0,04	0,50	20
ГЭС					
Саяно-Шушенская	48,20	10,14	3,48	20,61	18
Красноярская	45,84	14,37	4,71	21,64	18
Братская	49,49	5,47	2,30	19,09	8
Усть-Илимская	34,18	6,57	1,81	14,19	8
Волжская	18,75	3,60	1,80	8,05	9
Жигулёвская	17,25	3,05	1,64	7,31	5
Бурейская	31,54	3,15	1,10	11,93	4
Чебоксарская	13,24	2,04	0,88	5,39	3
Саратовская	17,08	1,91	1,00	6,66	7
Зейская	14,80	2,76	0,77	6,11	6

Таблица 2

Сравнительная таблица показателей АЭС и ГЭС

Средние значения показателей	АЭС	ГЭС
Численность населения поселений, чел.	61 274,3	113 262,7
Уровень урбанизации субъекта РФ %	73,0	72,8
Электрическая мощность, МВт	2 520,8	3 174,4
Годовая выработка электроэнергии млн. кВтч	17 729,0	12 516,4
КИУМ электроэнергия %	80,3	45,01
Протяженность ЛЭП км	1062	992,7
Площадь ЛЭП км ²	33 055,5	28 080,1
Площадь электрических подстанций км ²	0,757	0,429
Площадь используемых водоемов км ²	54,7	2 637,3
Объем используемых водоемов км ³	0,246	53,9
Общая площадь используемых экосистем, км ²	33 113,4	30 719,1
Индекс En (Станция)	15,7	28,6
Индекс En (Подстанция)	2,9	4,8
Индекс En (ЛЭП)	1,4	1,9
Суммарный Индекс En	7,4	12,1

Тенденция развития отечественных АЭС указывает на постепенное увеличение их доли в производстве электроэнергии страны и одновременное снижение доли ТЭС [4].

Деятельность АЭС и крупных ГЭС направлена в основном на энергообеспечение крупных промышленных предприятий, а также на экспорт электроэнергии в другие регионы РФ и близлежащие страны, энергообеспечение населения является вторичной функцией.

Большая часть экосистем, в которых расположены существующие АЭС, характеризуются высокими показателями продуктивности растительности фитомассы.

Суммарный индекс En для АЭС имеет корреляционную связь с плотностью населения, установленной электрической мощностью, производством электроэнергии, коэффициентом использования

установленной мощности электростанции (КИУМ), забором воды из водоёмов, оборотным водоснабжением, сбросом сточных вод, образованием отходов 1-ого класса опасности ($r = 0,42; 0,89; 0,87; 0,55; 0,35; 0,82; 0,34; 0,86$ соответственно). Суммарный индекс En для ГЭС имеет корреляционную связь с площадью территории поселения, установленной электрической мощностью, производством электроэнергии, географическими координатами, высотой над уровнем моря и объемом водохранилищ ($r = 0,74; 0,95; 0,87; 0,33; 0,41; 0,73; 0,48$ соответственно).

В соответствии с результатами расчета индекса En, основу степени воздействия объектов энергетики на экосистемы составляют: вид электростанции, производственные показатели, физико-географические и природно-климатические характеристики

территории, КИУМ, количество используемых биоресурсов.

В связи с планируемым строительством на территории России новых АЭС и ГЭС, прогнозируется увеличение количества используемых биоресурсов и усиление техногенной нагрузки на экосистемы. Учитывая значение энергетической отрасли для социально-экономического развития субъектов РФ, необходима оптимизация деятельности действующих объектов энергетики и экологическая экспертиза проектов строительства планируемых электростанций, с учётом целевого назначения объекта [2].

Основой для территориального планирования в области энергетики являются: экологический потенциал территорий подлежащих застройке, прогноз эффективности хозяйственной деятельности планируемого объекта энергетики (использование установленной мощности) с учетом физико-географических и природно-климатических условий, а также экономически обоснованное подтверждение необходимости планируемого объекта.

Научные исследования в области рационального использования природных ресурсов и охраны окружающей среды являются базой для разработки и

реализации государственных программ развития территорий поселений.

Литература

1. Артамонов Г.Е. Гутников В.А. Природные ресурсы и экосистемы для объектов ТЭК // Вестник Российского Университета Дружбы Народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности М.: РУДН. 2013. № 4 с. 107-117.
2. Гутников В.А. Экспертиза инвестиционных проектов. / Учебное пособие. М.: РУДН. 2013. 730 с.
3. Исаченко А.Г. Ландшафты СССР. – Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та, 1985. – 320 с.
4. Федеральная служба государственной статистики Российской Федерации [Официальный сайт]. URL: <http://www.gks.ru> (дата обращения: 01.11.2014).
5. ОАО «Концерн Росэнергоатом» [Официальный сайт]. URL: <http://www.rosenergoatom.ru> (дата обращения: 05.11.2014).
6. ОАО «Русгидро» [Официальный сайт]. URL: <http://www.rushydro.ru> (дата обращения: 06.11.2014).

Гулай А.В.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ *ARVICOLA TERRESTRIS* С БАКТЕРИЯМИ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*

кандидат биологических наук, доцент, Институт агроэкологии и природопользования
Национальной академии аграрных наук Украины, г. Киев

ECOLOGICAL INTERRELATION OF *ARVICOLA TERRESTRIS* AND THE *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* BACTERIA

Hulai Alexander, Candidate of Science, assistant professor, The Institute of Agroecology and Environmental Management of National Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kiev

АННОТАЦИЯ

Цель. Изучить экологические связи *Arvicola terrestris* с патогенными бактериями *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Метод. Грызунов *A. terrestris* обследовали с использованием серологической реакции пробы роста.

Результат. Экстенсивность поражения водяных полевок колебалась в зависимости от места отлова от 1,49% до 20,65%.

Выводы. Наличие в крови водяных полевок антител к бактериям *E. rhusiopathiae* указывает на формирование между этими видами трофических, топических и форических типов биоценологических связей.

Ключевые слова: *Arvicola terrestris*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

ABSTRACT

Background. To study ecological relationship of *Arvicola terrestris* with pathogenic bacteria *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Methods. *A. terrestris* rodents were examined using serological reaction of the growth test.

Result. The extensity of infection in water voles fluctuated from 1.49% to 20.65% depending on the trapping location.

Conclusions. The presence of antibodies to the *E. rhusiopathiae* bacteria in the blood of water voles indicates the formation of trophic, topic and phoric types of biocenotic ties between these species.

Keywords: *Arvicola terrestris*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Водяная полевка (*Arvicola terrestris* L., 1758) имеет довольно обширный ареал, охватывающий территорию северной части Евразийского материка от Атлантического побережья Западной Европы до центральной и юго-восточной Якутии; к югу – до северного побережья Средиземного моря, Малой и Передней Азии, северной Монголии, северо-западных районов Китая. На большей части своего ареала численность водяной полевки достаточно высока, а в годы массовых размножений огромна [7].

В почвах и водоемах часто встречаются *Erysipelothrix rhusiopathiae* – патогенные бактерии, которые способны поражать достаточно широкий

круг животных, а также людей, вызывая заболевание *Erysipelas* [1]. Литературные источники указывают на обнаружение этого возбудителя у водяных полевок [4-8]. Вместе с этим, нам не удалось найти сведений об исследованиях и выявлении в Украине случаев заражения водяных полевок бактериями *E. rhusiopathiae*. Для обеспечения эпидемиологической и эпизоотической безопасности территорий, учитывая широкую распространенность водяных полевок, а также повсеместное выявление *E. rhusiopathiae* в объектах внешней среды, необходимо исследование особенностей экологических взаимодействий между этими видами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Водяных полевок отлавливали на территории Хмельницкой и Кировоградской областей Украины.

Серологическое обследование животных проводили с использованием реакции пробы роста с кровью на фильтровальной бумаге [2, 3].

Кровь в объеме около 1,2 см³ (0,4 см³ сыворотки) отбирали из сердца, наносили на кусочки фильтровальной бумаги и высушивали при комнатной температуре. В лаборатории воздушно-сухую каплю крови измельчали и помещали в пробирку. Для получения 10% раствора сыворотки крови в пробирку добавляли 3,6 см³ сердечно-мозгового бульона (AES Chemunex, Франция). После экстракции при комнатной температуре в течении 1,5 часов полученный раствор стерилизовали при помощи шприцевых фильтров Minisart (Sartorius, Германия) с размерами пор < 0,2 μm.

Методом последовательных разведений готовили образцы объемом 2,0 см³ питательной среды, которые содержали сыворотку крови в концентрации – 10,0%, 5,0%, 2,5%, 1,3%, 0,6%, 0,3%. В качестве антигена в каждый образец вносили 0,05 см³ суточной культуры *E. rhusiopathiae* и культивировали при 36,7±0,3°C в течении 24 часов. Оценка результатов производилась при визуальном осмотре образцов в проходящем свете. Пробу считали отрицательной при наличии признаков роста культуры (помутнение питательной среды в виде “муаровых волн”) без признаков аглютинации. Пробу считали положительной при отсутствии признаков роста бактерий и наличии хорошо выраженной зоны осадка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показатель экстенсивности заражения водяных полевок, в зависимости от места отлова, колебался в пределах от 1,49% до 20,65%, что, по нашему мнению, объясняется отличиями в протекании эпизоотического процесса на разных территориях. В общем, из всех обследованных особей водяной полевки (n = 332), 12,05% животных оказались серологически положительными. При этом показатель экстенсивности заражения самок составил 5,12%, самцов – 4,22%, молодых особей – 2,71%.

Обнаружение в сыворотке крови водяных полевок антител к патогенным бактериям

E. rhusiopathiae позволяет сделать вывод, что между этими видами формируется прямая трофическая связь по типу паразит – хозяин. При этом для бактерий *E. rhusiopathiae* организм водяной полевки (хозяина) выступает в качестве среды обитания, таким образом между этими видами формируется топический тип биоценологических связей.

При паразитировании *E. rhusiopathiae* находятся не только в организме хозяина, но и выделяются из него во внешнюю среду. При протекании инфекционного процесса водяные полевки перемещаются в пределах индивидуальных участков, мигрируют на прилегающие территории, способствуя таким образом распространению возбудителя. В результате этих процессов между водяной полевкой и *E. rhusiopathiae* формируется форический тип биоценологических связей.

ВЫВОДЫ

По данным серологического обследования водяных полевок показатель зараженности грызунов бактериями *E. rhusiopathiae* составляет от 1,49% до 20,65%.

Между *A. terrestris* и патогенными бактериями *E. rhusiopathiae* в условиях пресных водоемов и прибрежных экосистем формируются биоценологические связи топического, трофического и форического типов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисович Ю.Ф., Кирилов Л.В. 1987. Инфекционные болезни животных: Справочник. М. Агропромиздат: 288.
2. Воронин Е.С., Романова М.В. 1987. Рожа свиней: профилактика и меры борьбы. М. ВНИИТЭИагропром: 42.
3. Гулай О.В., Жуковский О.М., Гулай В.В., Ткачук Н.П. 2014. Проведение серологической реакции пробы роста з кровью на фильтровальной бумаге. Патент Украины. № 91322.
4. Дунаева Т.Н., Емельянова О.С., Кучерук В.В. 1953. Вопросы краевой, общей и экспериментальной паразитологии и медицинской зоологии. М. 8: 175.
5. Жукова Л.Н., Конюшин Т.А., Попугайло В.М. 1966. Зараженность грызунов возбудителями листериоза и эризипелоида. ЖМЭИ. 7: 18 – 23.
6. Олсуфьев Н.Г., Петров В.Г., Шлыгина К.Н. 1959. Об обнаружении возбудителей эризипелоида и листериоза в воде ручьев. ЖМЭИ. 1: 89 – 94.
7. Пантелеев П.А. 1968. Популяционная экология водяной полевки и меры борьбы. М. Наука: 237.
8. Hubalek Z., Rudolf I. 2011. Microbial zoonoses and sapronoses. London – New York, Springer: 271.

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Давидянц Э.С.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ *SILPHIUM PERFOLIATUM* НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЗЕРНОВУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

кандидат химических наук, доцент, Ставропольский Научно-Исследовательский
Институт Сельского Хозяйства, г. Михайловск, Ставропольский край

*EFFECT OF EXTRACT FROM SILPHIUM PERFOLIATUM
ON THE PHYSIOLOGIC – BIOCHEMICAL PARAMETERS
AND GRAIN PRODUCTIVITY OF WINTER WHEAT*

Davidyants Eleonora,

*Candidate of Science, assistant professor of
Slavropol Research Institute of Agriculture, St. Mikhailovsk,
Stavropol krai*

АННОТАЦИЯ

В полевых условиях изучено рострегулирующее действие экстракта из *S. perfoliatum*, содержащего в качестве активных компонентов тритерпеновые гликозиды. Установлено, что обработка семян озимой пшеницы сорта Краснодарская 99 водным раствором экстракта стимулировала образование побегов кущения и формирование вторичной корневой системы, а также повышение суммарного содержания сахаров в узлах кущения.

Сочетание обработки семян и 2-кратного опрыскивание растений раствором экстракта приводило к увеличению содержания хлорофилла в листьях, сухого вещества в органах и урожайности зерна.

ABSTRACT

The growth – regulating action of extract from *S. perfoliatum* containing triterpene glycosides as active ingredients was studied in field conditions. It was found that the seeds treatment of Krasnodarskaj 99 winter wheat cultivar with water solution of the extract stimulated the education of tillering shoots and of secondary roots formation as well as increasing the total content of sugars in tillering nodes. The combination of seeds treatment and a two-fold spraying plants with a solution of the extract resulted an increase the chlorophyll content in leaves of dry matter in the organs and grain yielding capacity.

Ключевые слова: *Silphium perfoliatum*; озимая пшеница; зерновая продуктивность.

Keywords: *Silphium perfoliatum*; winter wheat; grain productivity.

Среди современных регуляторов роста растений приоритетное место занимают препараты, полученные на основе природных веществ. Значительный интерес для практического использования представляют тритерпеновые соединения, обладающие высокой физиологической активностью.

В результате изучения рострегулирующих свойств тритерпеновых гликозидов, выделенных из

надземной части сальфии пронзеннолистной (*Silphium perfoliatum* L.), нами установлена способность этих соединений оказывать физиологические эффекты, характерные для экзогенных фитогормонов (ауксинов, гиббереллинов, цитокининов) [2, с.127]. Показано, что обработка вегетирующих растений озимой пшеницы экстрактом из *S. perfoliatum*, содержащим тритерпеновые гликозиды, повышает урожайность зерна и улучшает его качество [3, с.30].

Цель настоящей работы – изучить изменение физиолого-биохимических показателей растений и урожайности зерна при обработке семян и совместной обработке семян и растений озимой пшеницы экстрактом из *S. perfoliatum*.

Материал и методы

Исследование проводили в полевых опытах, заложенных на экспериментальном поле отдела физиологии растений СНИИСХ в 2011-2013 гг.

Посевы размещали по предшественнику черны пар на удобренном агрофоне (N₉₀P₆₀). Использовали сорт озимой пшеницы Краснодарская 99 (КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко).

Схема опыта включала обработку семян дистиллированной водой (контроль), обработку семян экстрактом, обработку семян и растений экстрактом на IV и VIII этапах органогенеза (э.о.) (фазы начала выхода в трубку и колошения), обработку семян биосилом, обработку семян и растений биосилом на IV и VIII э.о.

Биосил использовали как препарат сравнения. Биосил содержит в качестве действующих веществ тритерпеновые кислоты хвои пихты сибирской.

Экстракт использовали в виде 1,0%-ного водного раствора для обработки семян и 0,2%-ного раствора - для обработки растений (эффективные концентрации экстракта устанавливали в лабораторных исследованиях). Биосил применяли в рекомендуемой дозе – 50 мл/т для обработки семян и 30 мл/га для опрыскивания растений.

Обработку семенного материала проводили общепринятым «полусухим» способом из расчета 10

мл/1 кг семян, норма расхода раствора при обработке посевов на IV э.о. составила 200, на VIII э.о. – 300 л/га.

Повторность опытов 3-кратная. Площадь деланки 15 м².

Оценку роста и развития растений при обработке семян препаратами проводили на III э.о. по высоте, кустистости, состоянию корневой системы общепринятыми методами.

Суммарное содержание сахаров в узлах кущения определяли рефрактометрическим методом на рефрактометре PAL-1.

Содержание хлорофилла во флаговых листьях определяли спектрофотометрическим методом в спиртовой вытяжке [5,с.69] на спектрофотометре «Sprekol».

Содержание сухого вещества в органах растений определяли термостатно-весовым методом.

Биологический урожай определяли методом отбора снопового материала с площади 0,25 м² каждой повторности.

Количество сырой клейковины в зерне по ГОСТу 13586. 1-68, качество – на приборе ИДК-1.

Результаты исследования статистически обрабатывались. В таблицах приведены средние арифметические и их стандартные ошибки из 4-х биологических и 3-х аналитических повторностей.

Результаты исследования и их обсуждение

Предпосевная обработка семян озимой пшеницы экстрактом из *S. perfoliatum* и биосилом стимулировала у растений рост, образование побегов кущения и формирование вторичной корневой системы. Высота, коэффициент кущения, количество узловых корней у растений опытных вариантов были выше, чем в контроле (таблица 1).

Под влиянием экстракта суммарное содержание сахаров в узлах кущения увеличилось на 2,7%. От степени развитости растений и содержания в их сахаров [6;54с.] в значительной мере зависит устойчивость озимой пшеницы к низким температурам в период перезимовки.

Таблица 1

Влияние обработки семян экстрактом из *S. perfoliatum* и биосилом на рост и развитие растений озимой пшеницы сорта Краснодарская 99 и суммарное содержание сахаров в узлах кущения (III э.о.) (в среднем за 3 года)

Варианты опыта	Высота растений, см	Коэффициент кущения	Количество узловых корней, шт.	Содержание суммы сахаров в узлах кущения, %
Дистиллированная вода, (контроль)	14,7±0,2	1,5±0,07	1,2±0,04	14,8±0,4
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i>	15,8±0,3	1,8±0,08	1,4±0,07	17,5±0,2
Биосил	16,6±0,4	1,7±0,09	1,5±0,06	15,8±0,3

Важнейшим биохимическим показателем, определяющим эффективность функционирования фотосинтетического аппарата и его потенциальные возможности в формировании общей биологической продуктивности растений, является количество хлорофилла.

На варианте с совместной обработкой семян и 2-кратной обработкой растений озимой пшеницы экстрактом суммарное количество хлорофилла во

флаговых листьях увеличилось относительно контроля в среднем за 3 года на 9,0%, при этом наблюдалось увеличение доли хлорофилла *a* (таблица 2). Это особенно важно в связи с выявлением корреляционной зависимости между содержанием пигментов, зерновой продуктивностью и содержанием белка в зерне [1;135с.], причем в большей степени с урожаем зерна коррелирует содержание хлорофилла *a* [4;344с.].

Таблица 2

Влияние обработки семян и растений озимой пшеницы сорта, Краснодарская 99 экстрактом из *S. perfoliatum* и биосилом на содержание хлорофилла во флаговых листьях на IX-X э.о. (в среднем за 3 года).

Варианты опыта	Хлорофилл, мг/г сухого вещества			
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a+b</i>	<i>a/b</i>
Контроль	2,40±0,02	1,65±0,03	4,05±0,05	1,45±0,04
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с)*	2,45±0,05	1,62±0,08	4,08±0,05	1,51±0,04
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с+р)	2,64±0,03	1,77±0,05	4,41±0,07	1,49±0,03
Биосил (с)	2,22±0,05	1,47±0,02	3,69±0,05	1,51±0,02
Биосил (с+р)	2,51±0,05	1,64±0,03	4,15±0,08	1,53±0,02

Примечание: здесь и далее *(с) – обработаны семена, (с+р) – обработаны семена и растения на IV и VIII э.о.

Об активности протекающих биосинтетических процессов можно судить по накоплению сухого вещества. Наибольшее значение для формирования урожая имеет образование сухого вещества в период цветения – налива зерна (IX-X э.о.) [7, с.18].

Под влиянием исследуемого экстракта и биосила на IX-X э.о. наблюдалось повышение содержания сухого вещества в продуктивных побегах, в том числе в листьях и колосьях по сравнению с контролем (таблица 3).

Таблица 3

Влияние экстракта из *S. perfoliatum* и биосила на содержание сухого вещества в продуктивных побегах озимой пшеницы сорта Краснодарская 99 на IX-X э.о.

Варианты опыта	Сухое вещество 10 продуктивных побегов, г				
	стебли	зеленые листья	желтые листья	колосья	продуктивные побеги полностью
Благоприятный по водообеспеченности год (2011)					
Контроль	9,8 ±0,7	1,32±0,04	1,54±0,04	6,4±0,1	19,1±0,9
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с)	9,9±0,5	1,40±0,02	1,58±0,03	6,8±0,2	19,7±0,8
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с+р)	9,5±0,4	1,59±0,06	1,29±0,05	7,0±0,2	19,4±0,7
Биосил (с)	9,9±0,4	1,60±0,03	1,16±0,13	6,8±0,3	19,5±0,9
Биосил (с+р)	9,2±0,6	1,73±0,08	0,93±0,10	7,2±0,3	19,1±1,1
Неблагоприятный по водообеспеченности год (2012)					
Контроль	6,6±0,5	1,57±0,05	0,65±0,12	3,7±0,5	12,5±1,2
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с)	7,1±0,7	1,61±0,1	0,64±0,04	4,4±0,4	13,8±1,2
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с+р)	6,7±0,9	1,75±0,07	0,80±0,01	4,6±0,1	13,9±1,1
Биосил (с)	6,4±0,7	1,60±0,08	0,61±0,11	3,9±0,5	12,6±1,4
Биосил (с+р)	6,7±0,1	1,79±0,09	0,31±0,04	4,5±0,4	13,3±0,6

При сочетании обработки семян и 2-кратного опрыскивания растений экстрактом содержание сухого вещества превысило этот показатель в контроле на 9% (при благоприятной водообеспеченности) и на 24% (при засухе).

Регуляторы роста оказали заметное положительное влияние также на накопление массы сухого вещества корневой системы, что имело важное значение в повышении устойчивости растений к водному стрессу в засушливых условиях (2012 г.). Если

масса сухого вещества корней 10 контрольных растений в фазу цветения составила 0,46±0 г, то масса сухого вещества корней 10 опытных растений составила при обработке семян экстрактом и биосилом соответственно 0,50±0,01 и 0,60±0,02 г, а при сочетании обработки семян и 2-кратной обработки растений этими препаратами – 0,79±0,13 и 0,74±0,14 соответственно.

На опытных вариантах установлено повышение урожайности зерна по сравнению с контролем (таблица 4).

Таблица 4

Влияние экстракта из *S. perfoliatum* и биосила на величину биологического урожая зерна, количество и качество клейковины в зерне озимой пшеницы Краснодарская 99 (в среднем зав 3 года)

Варианты опыта	Биологический урожай зерна, г/м ²	Количество клейковины в зерне, %	ИДК, ед.
Контроль	718,3±13,3	28,0	90
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с)*	748,9±15,8	28,0	91
Экстракт из <i>S. perfoliatum</i> (с+р)	764,1±14,8	27,4	80
Биосил (с)	754,6±13,6	28,8	92
Биосил (с+р)	760,1±15,3	28,1	87

При сочетании обработки семян и растений экстрактом отмечена более высокая прибавка биологического урожая (6%), чем при обработке семян. На этом же варианте наблюдалось улучшение качества клейковины, показатель ИДК снизился на 10 единиц.

Таким образом, при применении экстракта из *S. perfoliatum* как регулятора роста наблюдалось улучшение физиологического состояния растений озимой пшеницы и увеличения их продуктивности.

Список литературы:

1. Андрианова Ю.Е., Тарчевский И.А. 2000. Хлорофилл и продуктивность растений. М.: Наука, 135 с.
2. Давидянц Э.С. 2006. Рострегулирующая активность тритерпеновых гликозидов *Silphium perfoliatum* (Asteraceae). Раст.ресурсы. 42(1): 127-136.
3. Давидянц Э.С. 2006. Применение регуляторов роста тритерпеновой природы при выращивании озимой пшеницы. Агрехимия. 8: 30-33.
4. Кошкин Е.И., Гатаулина Г.Г., Дьяков Ф.Б. и др. 2005. Частная физиология полевых культур, под ред. Кошкина Е.И. М.: КолосС, 344 с.
5. Милаева Я.И., Примак И.П. 1969. Сравнительное определение количества пигментов в листьях кукурузы и табака ускоренным методом. Селекция и семеноводство. Киев, 12: 69-72.
6. Трунова Т.И. 2007. Растения и низкотемпературный стресс. М.: Наука, 54 с.
7. Шаповал О.А. 2004. Формирование урожая пшеницы при обработке регуляторами роста. Плодородие. 3: 18-21.

Сажина Н.Н.¹, Лапшин П.В.², Загоскина Н.В.³

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ АЛОЕ

¹кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник

Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН, г. Москва;

²кандидат биологических наук, научный сотрудник

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, г. Москва;

³профессор, доктор биологических наук

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, г. Москва

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME ALOE KIND EXTRACTS

Sazhina Natalia, Candidate of science, senior researcher, Emanuel Institute of Biochemical Physics Russian Academy of Sciences, Moscow

Lapshin Peter, Candidate of science, researcher, Timirjazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow

Zagoskina Natalia, Doctor of science, professor, Timirjazev Institute of Plant Physiology Russian Academy of Sciences, Moscow

АННОТАЦИЯ

Амперометрическим и хемилюминесцентным методами определены значения антиоксидантной активности экстрактов 15 различных видов Алое (*Aloe L.*). Обнаружены существенные различия антиокислительных свойств некоторых видов. Выявлены наиболее активные виды Алое, как потенциальные источники биологически активных соединений.

ABSTRACT

The total antioxidant activity of various Aloe kinds extracts were measured by ammetric and chemiluminescence methods. The comparative analysis of their antioxidative properties was made. The most active types, as potential sources of biologically active substances are exposed.

Ключевые слова: амперометрический и хемилюминесцентный методы, Алое

Keywords: ammetric and chemiluminescence methods, Aloe

Одной из актуальных задач современной фармацевтической науки является создание новых лекарственных средств на основе растительного сырья. В медицине широко применяют препараты из компонент некоторых суккулентных растений, в частности представителей рода Алое и Каланхое. В [1] был проведен скрининг 34 представителей рода Каланхое для сравнения антиоксидантной активности (АОА) соков их листьев. Выявлены два наиболее активных с точки зрения АОА представителя рода Каланхое, которые могут оказаться перспективными продуцентами биологически активных соединений. Целесообразно провести аналогичный скрининг и среди представителей рода Алое. Современные оперативные методы измерения АОА позволяют на более высоком уровне изучить их и осмыслить лекарственную ценность того или иного растения. Род алоэ включает около 270 видов. Они используются, в основном, как декоративные, но некоторые виды применяются и в лечебных целях, поскольку их листья содержат много ценных веществ, особенно полифенольных соединений. Они и обуславливают биологическую, в том числе и антиоксидантную, активность

(АОА) того или иного вида растения, то есть способность его компонент ингибировать окислительные свободнорадикальные процессы. Самым известным и популярным видом рода Алоэ является Алоэ Древовидное (*Aloe arborescens* Mill.). Это растение, известное под названием «столетник», давно используется как ценное лекарственное растение в фармацевтике для производства препаратов с широким спектром медицинского назначения. В [2,3] современными спектрофотометрическими и ВЭЖХ методами исследовали химический состав и количественное содержание биологически активных соединений в соке и экстрактах *Aloe arborescens* и определили их антирадикальную активность с применением ДФПГ и других методов. Кроме *Aloe arborescens*, много работ посвящены исследованию антирадикальной и противомикробной активности компонентов *Aloe vera* [4] и действие их на человека и животных. Что касается сравнительных характеристик антиоксидантных свойств разных видов Алоэ, то результатов таких целенаправленных научных исследований нет.

В настоящей работе проведен сравнительный анализ результатов измерений АОА экстрактов 15 видов Алоэ амперометрическим и хемилюминесцентным методами с целью выявления среди них потенциальных источников биологически активных соединений.

Объектами исследования являлись образцы спиртовых экстрактов листьев 15-ти представителей рода Алоэ, выращиваемых в коллекции суккулентов в Институте физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН в условиях оранжереи при естественном освещении. Листья Алоэ были срезаны в июле 2014г. и из них были сделаны спиртовые экстракты (70% этанол). Для сравнения степени экстракции активных веществ из листьев Алоэ Древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) были изготовлены также водный, 40% и 96% спиртовые экстракты. Измерения АОА образцов проводились электрохимическим (амперометрическим) и хемилюминесцентным (ХЛ) методами. Сущность **амперометрического метода** заключается в измерении тока, возникающего при электрохимическом окислении исследуемого вещества на поверхности рабочего электрода с потенциалом на стеклоуглеродном аноде +1,3 В [5]. При таких значениях потенциала происходит окисление многих природных фенольных (R-OH), тиоловых (R-SH) и других соединений, протекающее по схеме $R-OH \rightarrow R-O^{\bullet} + e^{-} + H^{+}$, и может быть использовано, как модельное, при измерении активности поглощения свободных радикалов. АОА образцов определяется по калибровочной зависимости окисляемости тролокса (интеграл тока по времени) от его концентрации в

мМ тролокса. Метрологические особенности определения АОА этим методом изложены в [6]. Погрешность измерения АОА с учетом воспроизводимости результатов составила 10%. В **хемилюминесцентном** (ХЛ) методе определения АОА использовалась схема окисления «гемоглобин (Hb) - (H₂O₂) – люминол», в которой образование радикалов-инициаторов происходит при взаимодействии Hb и H₂O₂, а люминол играет роль хемилюминогенного субстрата окисления [7]. Отличительной особенностью этой схемы является то, что образующиеся в ней радикалы могут инициировать свободнорадикальные реакции *in vivo*. Взаимодействие H₂O₂ с Hb сопровождается разрушением гема и выходом из него ионов железа,

которые участвуют в образовании OH[•], а также приводит к возникновению радикалов феррил Hb (Hb(•+)-Fe⁴⁺=O). Указанные радикалы-инициаторы вызывают одноэлектронное окисление люминола. В процессе окисления образуется L^{•-}-радикал, супероксид-радикал O₂^{•-}, эндопероксид люминола LO₂²⁻ и 3-аминофталат дианион (AP²⁻)^{*}, при переходе которого в основное состояние высвечивается квант света. Подробная методика измерений приведена в [7]. Для реализации этого метода в настоящей работе был использован прибор «Lum-5373». Латентный период (t-t₀) вычислялся от времени введения в ХЛ ячейку H₂O₂ до точки пересечения касательной в точке перегиба ХЛ кривой с временной осью. Калибровка строилась по зависимости латентного периода от концентрации тролокса, и по ней определялась АОА исследуемых образцов в мМ тролокса. Погрешность измерения АОА данным методом составила 15%.

В таблице представлены результаты измерения АОА различных экстрактов двумя методами. Для *A. striata* (№10) указаны два образца: спиртовый экстракт и сок. Для *Aloe arborescens* (№1) приведены еще 4 образца для разных экстрактов. Результаты свидетельствуют, что максимальная степень экстракции активных веществ, определенная по АОА в обоих методах, достигается 70% и 96% спиртом, поэтому сравнительный анализ АОА для 15 видов алоэ, представленных в таблице, был проведен для 70%-ных спиртовых экстрактов. Самые низкие значения АОА оказались у *A. vera* (№2), самые высокие – у *A. pillansii* (№5). У разных видов наблюдается сильное различие в значениях АОА, измеренных двумя методами (в 5-10 раз), поэтому корреляция результатов получилась достаточно низкая (r=0,69). В случае АОА для соков каланхоэ подобного не наблюдалось [1].

Таблица

Значения АОА образцов экстрактов Алое, полученные двумя методами.

№ обр.	Название растения	Вид экстракта	АОА, мМ тролокса (амперометрия)	АОА, мМ тролокса (хемилюминесценция)
1	<i>A. arborescens</i>	70% этанол 2мл, 1г алое	3,68	0,44
2	<i>A. vera</i>	-	0,24	0,04
3	<i>A. spinosissima</i>	-	2,16	1,28
4	<i>A. delaeti</i>	-	0,88	0,19
5	<i>A. pillansii</i>	-	5,16	4,55
6	<i>A. rauhii hybr.</i>	-	2,12	0,29
7	<i>A. jucunda</i>	-	0,78	0,12
8	<i>A. squarrosa</i>	-	1,73	0,65
9	<i>A. variegata</i>	-	0,85	0,43
10a	<i>A. striata</i>	70% этанол 2мл, 1г алое	1,08	0,60
10б	<i>A. striata</i>	сок	1,05	1,03
11	<i>A. dorotheae</i>	70% этанол 2мл, 1г алое	0,51	0,19
12	<i>A. hemmingii</i>	-	0,47	0,07
13	<i>A. broomii</i>	-	1,68	2,65
14	<i>A. plicatilis</i>	-	0,92	0,75
15	<i>A. brevifolia</i>	-	0,49	0,40
1a	<i>A. arborescens</i>	вода 1 мл, 0,5г 40%	2,26	0,13
1б		этанол 1мл	2,78	0,25
1в		70% этанол 1мл	2,99	0,30
1г		96% этанол 1мл	3,28	0,29

На рис. 1 приведены кинетические ХЛ-кривые, характерные для отдельных видов Алое. Для сравнения представлена ХЛ-грамма для тролокса (кривая 1), на которой четко выражен латентный период и практически не уменьшается амплитуда ХЛ. Такие ХЛ-граммы характерны для многих низкомолекулярных фенольных соединений: аскорбиновой, галловой, мочевого кислот, катехинов, кверцетина и пр. Уменьшение амплитуды ХЛ связано, в основном, с присутствием в образцах белковых и ферментных структур [7]. Для кинетических кривых некоторых экстрактов алое (кривые 2,6,7) наблюдается достаточно выраженный латентный период и понижение

амплитуды ХЛ, зависящее от дозы экстракта. Такое поведение ХЛ-кривых характерно для образцов №3,4,5,6,8,9,10,13,14,15 и свидетельствует о достаточно высоком содержании в них фенольных антиоксидантов, что подтверждается их высокой окисляемостью, регистрируемой амперометрией (таблица). По-разному ведут себя экстракт и сок *A. striata* (№10 – кривые 6 и 7). Сок дает больший латентный период, чем спиртовой экстракт, что связано, вероятно, с различием ингибирования окисления люминола компонентами сока и спиртового экстракта из-за изменения состава образца в процессе экстрагирования спиртом.

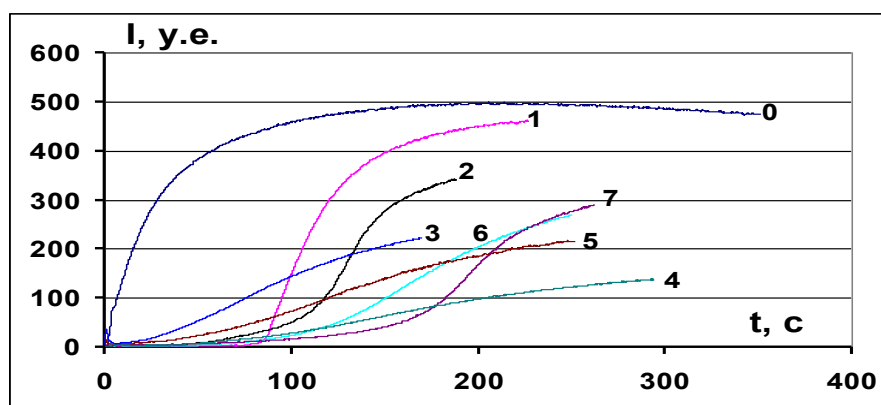


Рис.1. Динамика ХЛ при добавлении в окислительную смесь различных образцов: кривая 0 - холостая проба, 1 – 1мкл тролокса; 2 – 0,5мкл №13; 3 – 1мкл №1, 4 – 2мкл №1; 5 – 20мкл №2; 6 – 2мкл №10а, 7 – 2мкл №10б.

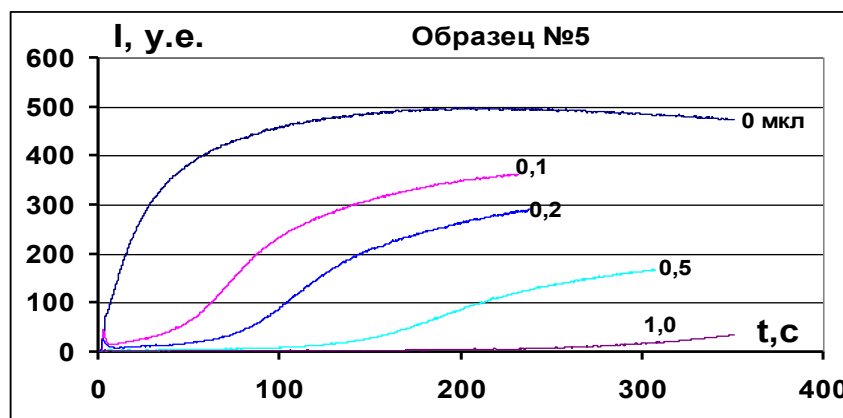


Рис.2. Динамика ХЛ при добавлении в окислительную смесь различных доз образца №5.

Самым ярким представителем рассмотренной группы экстрактов Алоэ является образец №5 (рис.2). Оба метода демонстрируют высокие значения АОА, а ХЛ тушится практически полностью уже при малой дозе экстракта (1мкл) и за счет увеличения латентного периода, что подтверждается высоким значением АОА по амперометрии, и за счет уменьшения амплитуды ХЛ, что свидетельствует о наличии в листьях этого вида каких-либо белков и ферментов. Этот вид алоэ (*A. pillansii*) (<http://www.lapshin.org/succulent/o-al-pil.htm>) совсем не изучен.

Вторая группа образцов экстрактов (№1,2,7,11,12) тушит ХЛ несколько по-другому (кривые 3,4,5 рис.1): очень плохо выраженный малый латентный период даже при высоких дозах (кривая 5 для 20мкл образца №2), медленное развитие свечения и значительное уменьшение амплитуды. У этих экстрактов сравнительно малые значения АОА, измеренные амперометрией, свидетельствующие о невысоком содержании в листьях этих видов активных антиоксидантов, но присутствуют компоненты белковой или ферментной природы, подавляющие амплитуду ХЛ, но не окисляющиеся на аноде амперометрического детектора. Для образца №2 (*A. vera*) это полисахариды [4]. Для самого популярного вида *A. arborescens* (№1) получены высокие значения АОА амперометрией за счет присутствия в нем достаточного количества фенольных соединений (элоэнин, алоин, алоэ-эмодин и др.), органических кислот и аминокислот [2], однако значения АОА, измеренные ХЛ, оказались на порядок меньше. Как показано в [2], сок *A. arborescens* вызывает инактивацию молекул H_2O_2 за счет присутствия в нем ряда ферментов (каталаза, пероксидаза) и ионов тяжелых металлов, потенцирующих процесс разложения H_2O_2 . Кроме того, полисахаридные комплексы в составе сока *A. arborescens* хелатируют ионы Fe^{2+} и связывают ионы тяжелых металлов. Поэтому эти компоненты сока или экстракта и не дают развиваться нормальному ХЛ свечению, связывая H_2O_2 и Fe^{2+} из гемоглобина, присутствующие в ХЛ окислительной смеси «(Hb) - (H_2O_2) - люминол», занижая значения

латентного периода, определяющего АОА. Вероятно, что это характерно и для других видов, имеющих низкие значения АОА по ХЛ и высокие АОА по амперометрии (№ 6,7,11,12).

Из таблицы видно, что бесспорным «аутсайдером» оказался экстракт *A. pillansii* (№5). Оба метода показали для него почти одинаковые высокие значения АОА, а компоненты, мешающие развитию ХЛ, как в *A. arborescens*, по-видимому, присутствуют в незначительном количестве. Для образца №3 (*A. spinosissima*) АОА по амперометрии оказалась почти в два раза выше, чем по ХЛ, а для образца №13 (*A. broomii*) наоборот. Желательно изучить химический состав соков и экстрактов этих видов алоэ, чтобы понять, за счет чего это происходит. Для расширения возможности использования указанных выше видов Алоэ, как источников биологически активных соединений, необходимо проведение дополнительных исследований соков этих растений на предмет изучения их химического состава, а также антибактериальных, противомикробных и других свойств компонентов этих растений. Возможно, они окажутся более перспективными и для использования их в медицине.

Литература

1. Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В., Короткова Е.И., Мисин В.М. 2013. Сравнительный анализ антиоксидантной активности соков Каланхое. Химия растительного сырья. 3: 113-119.
2. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Ибрагимов Т.А., Торопова А.А., Танхаева Л.М. 2010. Химический состав сока алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) и его антиоксидантная активность (in vitro). Химия растительного сырья. 3: 83-90.
3. Di Luccia B, Manzo N, Vivo M, Galano E, Amoresano A, Crescenzi E, Pollice A, Tudisco R, Infascelli F, Calabrò V. 2013. A biochemical and cellular approach to explore the antiproliferative and prodifferentiative activity of *Aloe arborescens* leaf extract. *Phytother Res.* 27(12): 1819-28.

4. Kaithwas G., Singh P., Bhatia D. Evaluation of in vitro and in vivo antioxidant potential of polysaccharides from Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) gel. 2014. Drug Chem Toxicol. 37(2): 135-143.
5. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках. 2008. Российский химический журнал. ЛП(2): 130-135.
6. Бирюков В.В. Особенности определения концентрации антиоксидантов амперометрическим методом. 2013. Химия растительного сырья. 3: 169-172.
7. Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Любицкий О.Б., Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. 1998. Ингибирование сывороточными антиоксидантами окисления люминола в присутствии гемоглобина и пероксида водорода. Вопросы медицинской химии. 44(1): 70-76.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Епифанова Е.А.¹, Борисова Е.В.², Салина В.А.³

ПОЛУЧЕНИЕ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА BDNF

*¹магистрант биологического факультета, Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород*

*²аспирант биологического факультета, Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород*

*³аспирант биологического факультета, Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород*

RECEIVING OF NUCLEOTIDE SEQUENCE OF NEUROTROPHIC FACTOR BDNF

*Epifanova Ekaterina Alekseevna, Magstrand of Biological
Faculty, Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod,
Nizhni Novgorod*

*Borisova Ekaterina Vladimirovna, Postgraduate student of
Biological Faculty, Lobachevsky State University of Nizhni
Novgorod, Nizhni Novgorod*

*Salina Valentina Aleksandrovna, Postgraduate student of
Biological Faculty, Lobachevsky State University of Nizhni
Novgorod, Nizhni Novgorod*

АННОТАЦИЯ

В статье предложены условия для успешного получения нуклеотидной последовательности нейротрофического фактора головного мозга BDNF, а также подбор плазмидного вектора для последующей сборки конструкции.

ABSTRACT

In this article you can find information about conditions for successful receiving of nucleotide sequence of neurotrophic factor BDNF and selection of plasmid vector for following assemblage of gene construct.

Ключевые слова: BDNF, ПЦР, AAV вектор

Keywords: BDNF, PCR, AAV vector

Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) – важная сигнальная молекула, участвующая в регуляции нейрогенеза, роста и выживаемости нейронов в центральной нервной системе. BDNF участвует не только в дифференциации нейронов и формировании синаптических контактов в процессе нейрогенеза, но и может являться активным корректором метаболизма зрелых нейронов [3, с.1329].

У человека зрелая молекула BDNF представляет собой димер (молекулярная масса 27 кДа, 119 негликозилированных аминокислотных остатков), состоящий из двух нековалентно связанных между собой субъединиц (13.5 кДа). Доказано, что человеческий ген BDNF локализован в 11-й хромосоме и состоит из четырех коротких 5'-некодирующих экзонов, связанных с разными промоторами, и одного 3'-

экзона, кодирующего данный белок. Также известно, что BDNF имеет пять изоформ, которые образуются в результате альтернативного сплайсинга [2, с.269].

В работах, посвященных исследованиям нейродегенеративных заболеваний, ишемических повреждений и травм ЦНС установлено, что BDNF обладает выраженными нейрозащитными свойствами, угнетает клеточный апоптоз [4, с. 26], препятствует гибели нейронов [6, с.846] и стимулирует рост холинергических нервных волокон [7, с.170]. Для восстановления работы головного мозга в результате травм или нейродегенеративных процессов необходимо стимулировать способность к эндогенной репарации функционально активных нейронных сетей. Одним из подходов может быть терапевтическое повышение уровня нейротрофического фактора BDNF.

В связи с этим **целью исследования** является создание аденоассоциированного вирусного вектора для экспрессии в клетках мозга нейротрофического фактора BDNF.

Материалы и методы

Основным методом исследования являлась полимеразная цепная реакция (ПЦР). ПЦР – это многократное повторение денатурации ДНК, отжига праймеров и праймированного синтеза комплементарной цепи ДНК в условиях *in vitro*. Метод основан на способности термостабильных ДНК-полимераз выдерживать без ощутимой потери активности высокий температуры, необходимые для денатурации ДНК. В реакции используют два олигонуклеотидных праймера, которые гибридизуются с противоположными цепями ДНК и ограничивают участок синтезируемой нуклеотидной последовательности. Поскольку вновь синтезируемая ДНК используется как матрица для синтеза в следующем цикле ПЦР, количество фрагментов ДНК удваивается каждый цикл (рис.1) [1, с.16].

Компоненты, требующиеся для проведения ПЦР:

- ДНК-матрица
- Прямой и обратный праймеры, комплементарные противоположным концам разных цепей ДНК
- Термостабильная ДНК-полимераза – фермент, катализирующий амплификацию нужного фрагмента ДНК

- Дезоксирибонуклеотиды
 - Буферный раствор
- Нужный объем реакционной смеси доводится бидистиллированной водой.

Основными параметрами ПЦР являются температура реакции и длительность ее воздействия. ПЦР обычно проводится в автоматическом режиме с использованием программируемых амплификаторов ДНК.

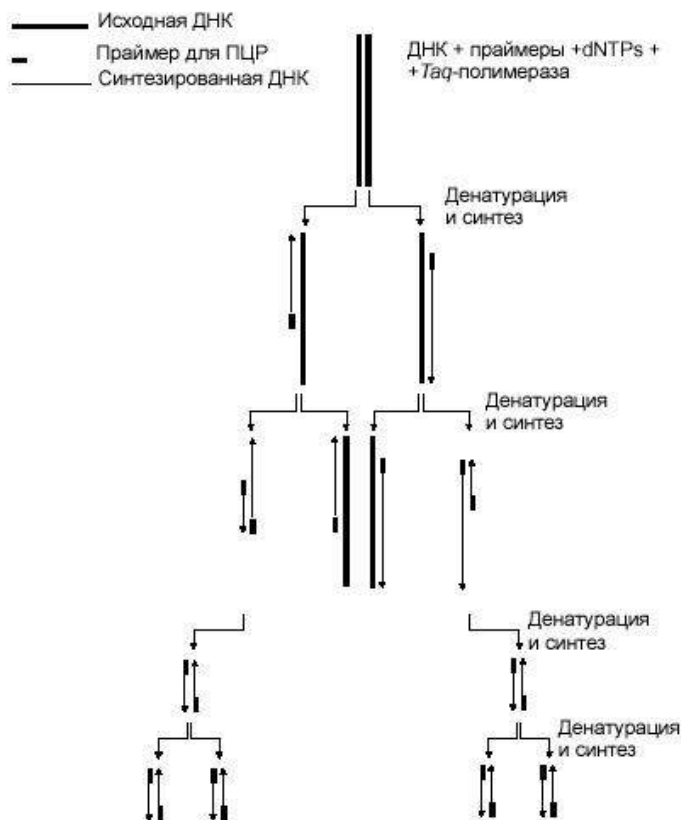


Рис. 1. Схема полимеразной цепной реакции.

Визуализация результатов ПЦР проводят методом электрофореза нуклеиновых кислот в 1% агарозном геле, содержащем флуоресцентный краситель – бромид этидия. Фрагменты нуклеиновых кислот разделяются под действием электрического поля и обнаруживаются затем в ультрафиолетовом свете в виде ярких светящихся полос [1, с. 18].

Для проведения ПЦР использовали коммерческий набор реактивов Phusion High-Fidelity PCR Kit, включающий Phusion High-Fidelity ДНК полимеразу. Она имеет уникальное строение - новый Ругосoccus-подобный фермент слит с энхансерным доменом, что повышает скорость и точность работы фермента. Phusion ДНК-полимераза является одной из наиболее точных термостабильных полимераз и обладает 5'→ 3'-полимеразной активностью, 3'→ 5'экзонуклеазной активности и генерирует ДНК без неспаренных оснований.

Результаты

1. В результате работы с литературой была выбрана плаزمид, ставшая в последующем основой вирусного вектора (рис.2). Это бактериальная плазмида pUC19, несущая последовательности:
 - человеческого промотора белка синапсина hSyn(0,5) – сильный промотор, позволяющий экспрессировать необходимый ген в нейрональных клетках;
 - WPRE (Woodchuck hepatitis posttranscriptional regulatory element) энхансера – регуляторный элемент, значительно усиливающий работу промотора синапсина hSyn;
 - мультилинкера для клонирования ORF встраиваемого гена;
 - гена EGFP, который при необходимости вырезается соответствующими рестриктазами;
 - SV40 polyA сигнальная последовательность, фланкированная ITR (Inverted terminal repeat)-повторами из AAV серотипа 2 [5, с.839].

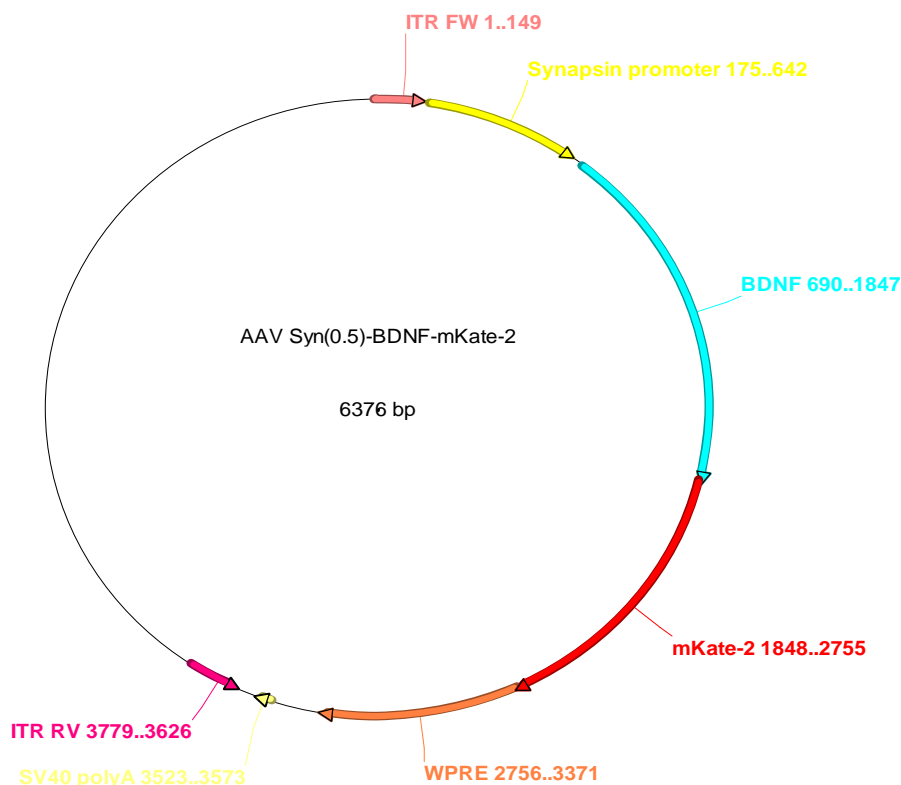


Рис. 2. Структура вектора AAV-Kid2-BDNF-mKate2

2. В дополнение для визуализации экспрессии нейротрофического фактора BDNF будет внесена последовательность флуоресцентного белка mKate2 (Evrogen).

mKate2 - это мономер, в дальне-красном диапазоне длин волн, оптимальном для прохождения света через ткани. Яркость mKate2 по крайней мере в 2 раза выше, чем яркость других описанных на данный момент подобных белков. Белок mKate2 обладает низкой цитотоксичностью, яркой флуоресценцией, высокой рН-стабильно-

стью и флоростабильностью, что делает его превосходным флуоресцентным маркером для меченных живых тканей.

3. В ходе работы также была подобрана система праймеров mBDNF-EcoRI-fw и mBDNF-BamHI-noStop-rv (табл.1), используемая при амплификации нейротрофического фактора мозга BDNF, в состав которых внесены сайты рестрикции для последующей рестрикции и лигирования в конструируемый вектор.

Таблица 1

Последовательности праймеров, используемые в работе

mBDNF-EcoRI-fw	5'-aaaaaaGAATTCCCACCATCCTTTTCCTTACTATGGTTATTTTC-3'
mBDNF-BamHI-rv	5'-TTTTTTGGATCCAATCTTCCCCTTTTAATGGTCAGTGTACATAC-3'

4. Также были определены температуры и время реакции, позволяющие амплифицировать олигонуклеотидную последовательность нейротрофического фактора BDNF. Начальная денатурация проводилась при температуре 95°C в течение 30 секунд. Затем следовал рабочий цикл, повторяющийся 25 раз:
95°C – 10 сек – денатурация

66°C – 10 сек – отжиг праймеров
72°C – 1 мин 30 сек – элонгация
И после этого следовала финальная достройка цепей при температуре 72°C в течение 5 минут.

5. В результате была получена последовательность нейротрофического фактора мозга BDNF, это видно на электрофореграмме (рис. 3).

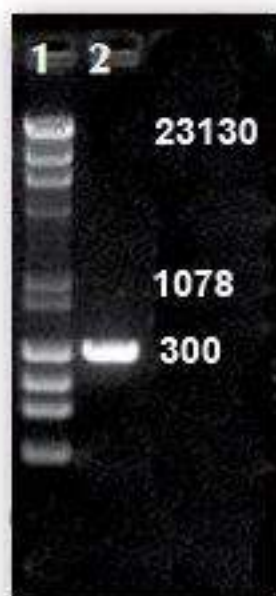


Рис. 3. Электрофореграмма результатов ПЦР, 1 - маркер длин ДНК, 2 - BDNF

Выводы

1. Осуществлен подбор плазмидного вектора для последующей сборки конструктора.
2. Выполнен подбор условий проведения полимеразной цепной реакции для амплификации нуклеотидной последовательности нейротрофического фактора BDNF.
3. Получена последовательность нейротрофического фактора мозга BDNF.

Список литературы

1. Новиков Д.В., Уткин О.В., Новиков В.В. Полимеразная цепная реакция. Нижний Новгород. 2005. 18 с.
2. Сахарнова Т.А., Ведунова М.В., Мухина И.В. Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) и его роль в функционировании Центральной нервной системы. *Нейрохимия*, том 29, № 4. 2012. С. 269–277.
3. Almeida R.D., Manadas B.J., Melo C.V., Gomes J.R. et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways *Cell death and differentiation*. 2005; 12 (10): 1329-1343.
4. Garrido R., Toborek M. Nicotine upregulates expression of neurotrophic factors and attenuates apoptosis of spinal cord neurons // *J. Neurochem.* — 2003. — Vol. 85. P. 26.
5. Grimm D., Kay M.A., Kleinschmidt J.A. Helper virus-free, optically controllable, and two-plasmid-based production of adeno-associated virus vectors of serotypes 1 to 6. *Mol Ther.* 2003.7:839-850.
6. Hock C., Heese K., Hulette C. et al. Region-specific neurotrophin imbalances in Alzheimer disease: decreased levels of brain-derived neurotrophic factor and increased levels of nerve growth factor in hippocampus and cortical areas // *Arch. Neurol.* — 2000. — Vol. 57. — P. 846–851.
7. Jakeman L.B., Wei P., Guan Z., Stokes B.T. Brain-derived neurotrophic factor stimulates hindlimb stepping and sprouting of cholinergic fibers after spinal cord injury // *Exp. Neurol.* — 1998. — Vol. 154. — P. 170–184.

Соколик В.В.

КОДИРОВАНИЕ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ И СТРУКТУРНОГО ШАБЛОНА БЕЛКА В ГЕНОМЕ ЭУКАРИОТ

*кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины»,
г. Харьков*

ENCODING OF SECOND STRUCTURE AND STRUCTURAL TEMPLATE OF PROTEIN IN EUKARIOTIC GENOME
 Sokolik Victoria, Candidate of Science, principal research fellow, SI "Institute of neurology, psychiatry and narcology of the NAMS Ukraine", Kharkov

АННОТАЦИЯ

Цель. Обосновать кодирование вторичной структуры и её топологии в структурном шаблоне белка в геноме эукариот. Методы. Анализовали вторичную структуру 100 белков эукариот (PDB). Оценивали частоту встречаемости кодонов ХУС/Г, ХУА, ХУТ и их кластеров в нуклеотидных последовательностях, детерминирующих спирали, β-тяжи, повороты и неструктурированные фрагменты белков. Результаты обрабатывали статистически. Результаты. Установили, что правая спираль кодируется (ХУС/Г)*n*, *n*≥3, повороты – (ХУА)*n*, *n*≥3, β-тяжи – ХУТ. Вывод. В геноме эукариот содержится информация о структуре белков.

ABSTRACT

Background. Substantiate the encoding of the secondary structure and its topology in the structural template of protein in eukaryotic genome. Methods. Analyzed a secondary structure of 100 eukaryotic proteins (PDB). Evaluated the frequency of codons ХУС/Г, ХУА, ХУТ and their clusters in nucleotide sequences, which determine the helix, β-strands, turns and unstructured protein fragments. The results were treated statistically. Result. Found that the right helix encoded (ХУС/Г)*n*, *n*≥3, turns – (ХУА) *n*, *n*≥3, β-strands – ХУТ. Conclusion. In eukaryotic genome contains information about the structure of proteins.

Ключевые слова: вторичная структура; структурный шаблон белка; генетический код.

Keywords: second structure; structural template of protein; genetic code.

В настоящее время одним из алгоритмов моделирования пространственной структуры белка *in*

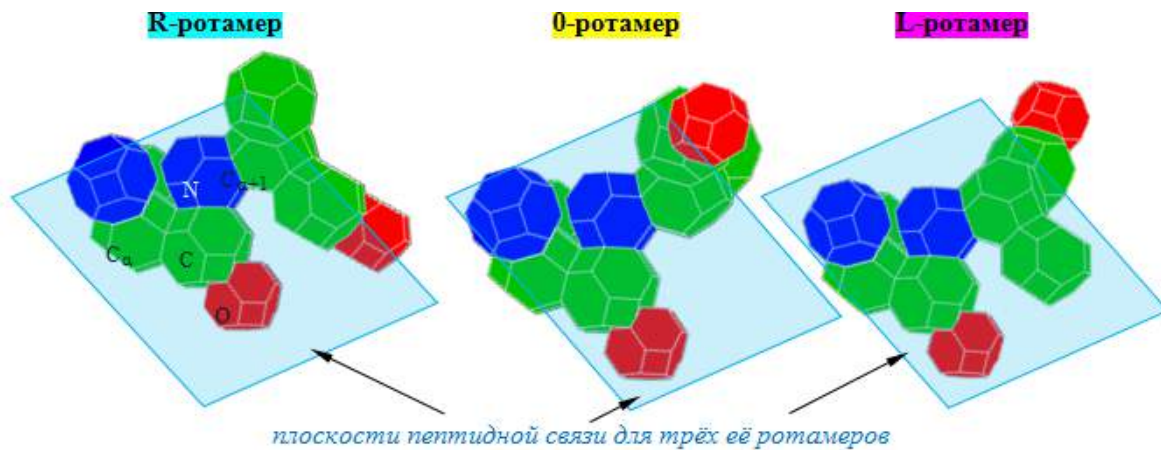
silico, который исходит из его аминокислотной последовательности, является способ построение модели по гомологии на основе общего структурного шаблона гомологичных белков [1-3]. Десять лет назад Кушелевым А.Ю. была сформулирована идея кодирования пространственной структуры белка [4], которая в абстрактном виде звучала ещё в первых работах Gamow G. [5]. Дальнейшая разработка проблемы привела Соколик В.В. к гипотезе о том, что в ходе трансляции на рибосоме синтезируется не только аминокислотная цепочка, как считали ранее [6-7], и не полностью спирализованный полипептид, как недавно предположил Спириин А.С. [8], а индивидуальный структурный шаблон белка со специфичной топологией вторичной структуры [9-12]. При этом информация третьего нуклеотида детерминирует реализацию элементов вторичной структуры в структурном шаблоне белка (табл. 1) с помощью пула изоакцепторных тРНК для синонимичных кодонов [13]. Механизм такой реализации состоит в декодировании, формировании и фиксации в полипептидном каркасе синтезируемого белка ротамеров пептидной связи R, L и 0, которые различаются между собой углом поворота θ, кратным 120° (рис. 1). Крайне важно понимать, что ротамер пептидной связи реализуется в процессе матричного синтеза белка в рибосоме и дальнейшее вращение по уже образовавшейся полуторной пептидной связи становится невозможным. Поэтому с рибосомы сходят совершенно индивидуальные, но, в тоже время, идентичные между собой, молекулы структурных шаблонов синтезируемого белка, состоящие из последовательности ротамеров пептидной связи между аминокислотными остатками, в соответствие с информацией, содержащейся в его гене.

Таблица 1

Генетический код структурного шаблона белка

Y X	C a.o.	A a.o.	T a.o.	G a.o.	Z	PPC	θ
C	CCC	CAC H	CTC	CGC	C	R	0°
	CCA	CAA Q	CTA	CGA	A	L	-120°
	CCT P	CAT H	CTT L	CGT R	T	0	120°
	CCG	CAG Q	CTG	CGG	G	R	0°
A	ACC	AAC N	ATC	AGC S	C	R	0°
	ACA	AAA K	ATA I	AGA R	A	L	-120°
	ACT T	AAT N	ATT	AGT S	T	0	120°
	ACG	AAG K	ATG M	AGG R	G	R	0°
T	TCC	TAC Y	TTC F	TGC C	C	R	0°
	TCA	TAA Stop	TTA L	TGA Stop	A	L	-120°
	TCT S	TAT Y	TTT F	TGT C	T	0	120°
	TCG	TAG Stop	TTG L	TGG W	G	R	0°
G	GCC	GAC D	GTC	GGC	C	R	0°
	GCA	GAA E	GTA	GGA	A	L	-120°
	GCT A	GAT D	GTT V	GGT G	T	0	120°
	GCG	GAG E	GTG	GGG	G	R	0°

XYZ – первый, второй и третий нуклеотиды в кодоне; R, L, 0 – ротамер пептидной связи (PPC); uaa, uag, uga – Stop-кодона.



Угол поворота присоединяемой аминокислоты фиксируется в момент образования декодированного ротамера пептидной связи

Рисунок 1. Формирование R-, O- и L-ротамеров пептидной связи.

Таким образом, **цель** исследования состояла в обосновании кодирования в геноме вторичной структуры и её топологии в структурном шаблоне белка.

Дизайн исследования. Проанализировали случайную выборку из 100 белков эукариот, для которых в базе данных PDB представлены схемы вторичной структуры. Оценивали абсолютную и относительную частоту встречаемости кодонов вида XYC/G , XYA , XYT и их кластеров $(XYC/G)_n$, $(XYA)_n$, $(XYT)_n$, $n \geq 3$, в нуклеотидных последовательностях, детерминирующих спирали, β -тяжи, повороты и неструктурированные мотивы белков. Результаты обрабатывали статистически: t-критерий Стьюдента использовали для анализа производных показателей (абсолютная и относительная частота), убедившись в нормальности распределения; Р-тест Фишера и четырехпольные таблицы – для выявления статистической зависимости между конформерами и разновидностями кодонов и/или их кластеров: $\chi^2 > \chi^2_{крит}$ (3,8). Различия считали статистически значимым при $p \leq 0,05$, тенденция к значимым отличиям при $p \leq 0,10$.

Результаты. Установили, что правая спираль кодируется кластерами кодонов $(XYC/G)_n$, $n \geq 3$ ($P = 7.33 \cdot 10^{-22}$, $\chi^2 = 42.62$). Повороты детерминированы кластерами кодонов $(XYA)_n$, $n \geq 3$ ($P = 2.18 \cdot 10^{-3}$, $\chi^2 = 6.95$). Эти данные согласуются с выявленным достоверным превышением относительной частоты встречаемости кластеров $(XYC/G)_n$, $n \geq 3$ и $(XYA)_n$, $n \geq 3$ в областях генов, кодирующих спиральные фрагменты и повороты, соответственно (рис. 2). β -Тяжи менее жестко детерминированы кодонами XYT . Тест Фишера показал кодирование β -тяжей кодонами XYT или их кластерами $(XYT)_n$, $n \geq 3$: $P = 3.63 \cdot 10^{-6}$ ($\chi^2 = 22.05$) и $P = 3.43 \cdot 10^{-2}$ ($\chi^2 = 4.56$), соответственно, для изучаемого пула белков.

Для конформеров вторичной структуры белка характерна периодичность. Поэтому правая

спираль в качестве структурного шаблона для правой α -, правой π - или правой 3/10 спиралей в белке кодируется последовательностью кодонов с C/G в третьей позиции ($n \geq 3$), β -спираль (прототип β -тяжа) – кодонами с T, а левая спираль (или её единичный виток – прототип поворота) – последовательностью кодонов с A в третьем положении триплета ($n \geq 3$). Неструктурированные фрагменты белка кодируются чередованием кодонов с C, G, A и T в третьей позиции кодонов, что обуславливает отсутствие периодичности [14].

Таблица 1 легла в основу алгоритма авторской программы Молекулярный конструктор (МК), которая декодирует нуклеотидную последовательность с созданием координатного файла и визуализацией индивидуального структурного шаблона белка в качестве основы для дальнейших исследований методами молекулярной динамики.

Данный механизм кодирования и трансляции генетической информации является эволюционно новым. Его формирование у эукариот было обусловлено необходимостью синтеза больших и сложных белков в виде структурных шаблонов, максимально приближенных к функциональным конформациям этих белков, чтобы фолдинг имел наибольшие скорость и КПД. У прокариот и органелл эукариот (митохондрии, хлоропласты) третий нуклеотид кодонов в генах небольших полипептидов ещё не является информационным, поэтому на нём и наблюдается воблирование по описанному Crick F. механизму [15]. Это обусловлено отсутствием пула изоакцепторных тРНК со специфически модифицированными нуклеотидами в первом положении антикодона и нередко отсутствием филогенетически более молодых областей в структуре тРНК [16], т.е. недоразвитием звена, реализующего информацию третьего нуклеотида.

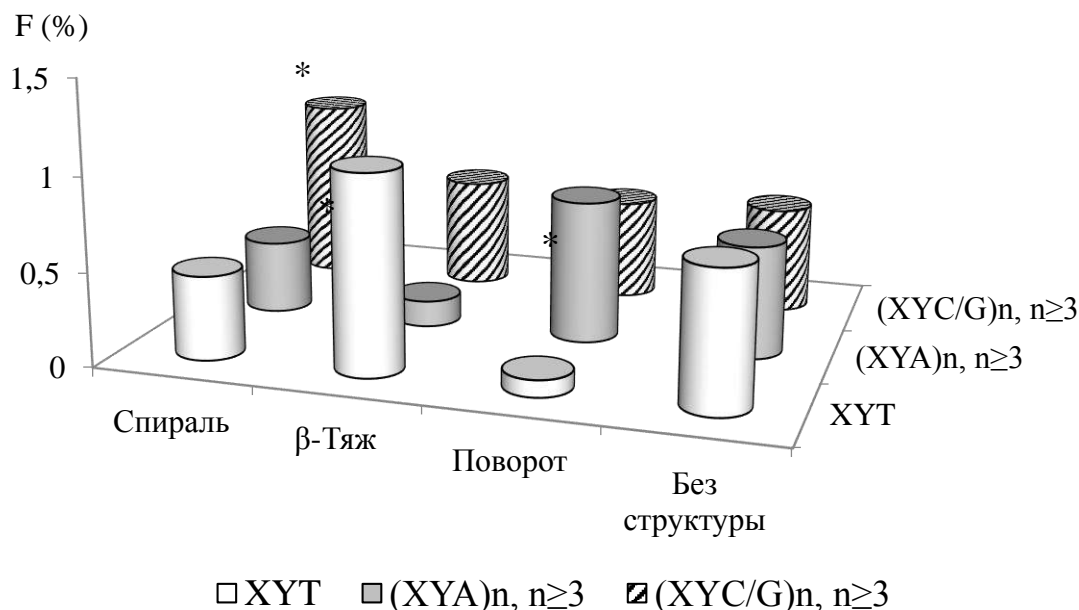


Рисунок 2. Относительная частота (F) встречаемости кодона вида ХУТ и кластеров кодонов (ХУС/Г)_n, n ≥ 3, (ХУА)_n, n ≥ 3 в нуклеотидных последовательностях, детерминирующих спираль, β-тяж, поворот и неструктурированные фрагменты полипептидной цепи. * – p ≤ 0,05.

Анализ пространственной структуры семейств изоакцепторных тРНК с синонимичными кодонами позволил автору предложить гипотезу о перекодировании информации третьего нуклеотида кодонов в соответствующий ротамер пептидной связи непосредственно самой 3D-структурой тРНК, а точнее углом поворота акцепторного стебля вокруг своей оси. Модификации первого нуклеотида антикодонов тРНК лишь способствуют точности считывания этой информации и однозначности взаимодействия с мРНК в рибосоме [13-14].

В последнее время догма о несущественной роли третьего нуклеотида кодонов для синтеза белка была опровергнута результатами экспериментов по синонимическому мутагенезу. В частности было показано, что даже единственная синонимическая замена кодона может иметь значительное влияние на уровень экспрессии генов, фолдинг белков и на пространственную структуру последних [17-18]. Поэтому синонимичные кодоны (отличающиеся нуклеотидом в третьем положении триплета, но кодирующие одну и ту же аминокислоту) не являются взаимозаменяемыми, даже если они неразличимы в отношении аминокислот [19]. Всё чаще высказывается мнение, что избыточность генетического кода сформировалась как способ сохранения структурной информации о белках в кодирующих их нуклеотидных последовательностях [20]. Однако большинство исследователей отмечают, прежде всего, связь частоты использования синонимичных кодонов со скоростью процесса матричного синтеза белка, полагая, что низкочастотные «медленные» кодоны в кодирующей нуклеотидной последовательности обеспечивают ге-

нетическую инструкцию, которая регулирует скорость синтеза белка, чтобы позволить растущей полипептидной цепи сформировать вторичную и третичную структуры [20-23]. Результаты данной работы, напротив, демонстрируют наличие в генах белков не только временных, а и пространственных инструкций для однозначного матричного синтеза уникальных структурных шаблонов белков.

Вывод. В геноме эукариот содержится информация о структуре белков.

Список литературы

1. Zhang Y. 2008. Progress and challenges in protein structure prediction. *Curr Opin Struct Biol* 18 (3): 342–348.
2. Nayeem A., Sitkoff D., Krystek S. Jr. 2006. A comparative study of available software for high-accuracy homology modeling: From sequence alignments to structural models. *Protein Sci* 15: 808–824.
3. Sivasubramanian A., Sircar A., Chaudhury S., Gray J. J. 2009. Toward high-resolution homology modeling of antibody Fv regions and application to antibody–antigen docking. *Proteins* 74: 497–514.
4. Кушелев А.Ю., Полищук С.Е., Неделько Е.В. 2002. Построение масштабной модели структуры белка. *Актуальные проблемы современной науки*. 2: С. 236–243.
5. Gamow G. 1954. *Possible Relation between Deoxyribonucleic Acid and Protein Structures*. *Nature* 173: 318.

6. Crick F.H., Barnett L., Brenner S., Watts-Tobin R.J. 1961. General nature of the genetic code for proteins. *Nature*. 192: 1227-1232.
7. Азимов А. 2006. Генетический код. От теории эволюции до расшифровки ДНК. М.: Центрполиграф: 300.
8. Спириин А.С. 2011. Молекулярная биология: рибосомы и биосинтез белка. М.: «Академия»: 496.
9. Sokolik V.V. 2011. Protein is coded in genome and synthesized in ribosomes as a structural template of a rotameric version sequence of peptide bound configuration. *MCCMB-11*: 347–348.
10. Sokolik V.V. 2010. Modeling of the individual structural template of protein on determining its nucleotide sequences. *BGRS\SB-2010*: 275.
11. Соколик В.В. 2012. Предсказание пространственной структуры белка *in silico* на основе информации генома и геометрического алгоритма – альтернатива квантово-механическому подходу. Материалы Международной научной конференции «Математическое и компьютерное моделирование в биологии и химии. Перспективы развития»: С.155-158.
12. Соколик В.В. 2014. Никакой дополнительной информации, большей, чем та, что содержится в ДНК, для сворачивания белка не требуется. *Ukr. Biochem. J.* 86(5), Suppl. 1: 37-38.
13. Соколик В.В. 2011. Загадка изоакцепторных тРНК. II Всероссийская Интернет-Конф. «Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии»: 11-15.
14. Кушелев А.Ю., Соколик В.В. 2012. Пикотехнология – новый подход в моделировании пространственной структуры белка. Заочная Международная научно-практическая конференция «Современная наука: тенденции развития»: 203-207.
15. Crick F.H.C. 1968. The Origin of the Genetic Code. *J. Mol. Biol.* 38: 367–379.
16. Maizels N., Weiner A.M. 1994. Phylogeny from function: Evidence from the molecular fossil record that tRNA originated in replication, not translation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91(15): 6729–6734.
17. Saunders R., Deane Ch.M. 2010. Synonymous codon usage influences the local protein structure observed. *Nucleic Acids Res.* 38: 6719–6728.
18. Plotkin J.B., Kudla G. 2011. Synonymous but not the same: the causes and consequences of codon bias. *Nat. Rev. Genet.* 12: 32–42.
19. Biro J.C. 2008. Correlation between nucleotide composition and folding energy of coding sequences with special attention to wobble bases. *Theor. Biol. Med. Model.* 5: 14.
20. Angov E. 2011. Codon usage: Nature's roadmap to expression and folding of proteins. *Biotechnol J.* 6: 650–659.
21. Marin M. 2008. Folding at the rhythm of the rare codon beat. *Biotechnol. J.* 3: 1047–1057.
22. Spencer P.S., Barral J.M. 2012. Genetic code redundancy and its influence on the encoded polypeptides. *Computational and Structural Biotechnology J.* 1: 1–8.
23. Grosjean H., de Crecy-Lagard V., Marck C. 2010. Deciphering synonymous codons in the three domains of life: co-evolution with specific tRNA modification enzymes. *FEBS Lett.* 584: 252–264.

ЗООЛОГИЯ

Афанасьева А.Н.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ БРАХИОПОД ГОРНОГО МАССИВА ШАХ-ТАУ

Студентка естественнонаучного факультета.

Научный руководитель: Чаус Борис Юрьевич, Доцент, кандидат биологических наук

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Стерлитамакский филиал «Башкирского государственного университета»

г. Стерлитамак

АННОТАЦИЯ

В статье представлены виды брахиопод, найденные на горном массиве Шах-Тау, а также краткое описание последнего.

Ключевые слова: Стерлитамакские шиханы, брахиопода, ярус, горизонт, фация

Стерлитамакские шиханы являются уникальными по доступности для исследователей остатками карьерного рифа, образовавшегося в теплом море ранней эпохи пермского периода.

Гора Шах-Тау имеет длину около 1,5 км, при ширине 0,8 км вытянута в северо-западном направлении. Первоначальное превышение горы над долиной р. Белой было около 170 м. В конце 60-х годов XX века оно составляло только 135 м, верхние 30 м массива были практически утеряны. В настоящее время высота горы Шах-Тау еще более снижена. Массив Шах-Тау образован породами ассельского и сакмарского ярусов и лишь по окраинам его имеются

незначительные участки пород артинского яруса. [2, с.46] В горе Шах-Тау развиты отложения нижней перми, меловой, палеогеновой, неогеновой и четвертичной систем. [3, с.19] К отложениям нижней перми относится ассельский и сакмарский ярусы, где и имеется наибольшее распространение брахиопод. Как было установлено Шамовым Д.Ф. (1938) представители типа плеченогие (Brachiopoda) являются беспозвоночные, которые ведут прикрепленный образ жизни. Раковина состоит из двух разного размера створок с замком. Сейчас известно около 200 видов, встречающихся в ассельском и сакмарском ярусах перми.

Ценные данные о брахиоподах Шах-Тау содержатся в работе И.К. Королюка, где были определены около 60 видов брахиопод, среди которых 15 родов продуктид, 11 родов спириферид, 1-5 родов из отрядов ринхонеллид, теребратулид, страфоменид, ортид. Стратиграфическое распределение основных видов показано в таблице. [1, с.69]

Таблица 1

Распределение брахиопод по ярусам, горизонтам и фациям

Род, вид	Ярус, горизонт, фация							
	Ассельский ярус				Сакмарский ярус			
	P1as2		P1as3		P1ts1		P1ts2+3	
	1	2	3	4	6	7	10a	10
<i>Cancrinella cancriniformis</i> (Tschern.)		+						
<i>Krotovia tuberculata</i> (Moell.)		+						+
<i>Karavankina fasciata</i> (Kut.)		+				+		
<i>Ghatoiella gruenewaldti</i> (Krot.)		+	+					+
<i>Marginifera involuta</i>		x	+		+	x		x
<i>Urushtenia pseudomedusa</i> (Tschern.)	+							
<i>Brachythyris sokolov</i> (Tschern.)		x						
<i>Eliya lyra</i> (Kut.)	+							
<i>Neospirifer sterlitamakensis</i> (Geras.)		+	+		+	x		
<i>Elivina tibetana</i> (Diener.)		+	+			x	x	+
<i>Camerisma sella</i>		+	+	+	x			+
<i>Septocamera plicata</i> (Kut.)					+	+		
<i>Echinaria ex gr. Semipurctata</i> (Schep.)			+		+	x		x
<i>Krotovia pustulata</i> (Keys.)		+						
<i>Linoproductus cora</i> (Tschern. non. Orb.)			+		x		+	+
<i>L. lineatus</i> (Waag.)					x	x	+	+

Род, вид	Ярус, горизонт, фация							
	Ассельский ярус				Сакмарский ярус			
	P1as2		P1as3		P1ts1		P1ts2+3	
	1	2	3	4	6	7	10a	10
<i>L. simensis</i> (Tschern.) <i>Meekella</i> sp.				x				
<i>Caliprotonia sterlitamakensis</i>						+		
<i>Reticulata</i> sp.					+	+		+
<i>Anidathus aagardi</i> (Toula)					x	+		+
<i>Juresania juresanensis</i> (Tschern.)						+		
<i>Brachythyris ufensis</i>							+	
<i>Neospirifer fredericki</i> (Geras.)							+	
<i>Choristites</i> (Trauscholdia)						x		
<i>Purdonella nikitini</i> (Tschern.)					+		+	
<i>Orthotichia morganiana</i>					+	+	x	
<i>Waagenoconchha irginaeformis</i> . Step.							+	
<i>Neospirifer cameratus</i> (Tschern. non Mort.)							+	
<i>Laioporella pyramidata</i> (Tschern.)							+	
<i>Rugatia uralica</i> (Tschern.)								+
<i>Kochiproductus porrectus</i> (Kut.)								+
<i>Meristorygma panduriformis</i> (Kut.)								+
<i>Avonia pseudoaculeata</i> Dielasma sp.							+	

Примечание + - распространенные; x – массовые; 1-10 – фации; 10a – оротихиевые банки.

Таким образом, брахиоподы являются одними из самых распространенных органических остатков в горном массиве Шах-Тау, и их дальнейшее изучение есть неотъемлемая часть привлечения внимания к другим Стерлитамакским шиханам для дальнейшего их исследования.

Список литературы:

1. Королюк, И.К. Методы и результаты изучения пермского рифогенного массива Шах-Тау [Текст] / И.К. Королюк. – М.: Наука, 1985. – 110 с.
2. Королюк, И.К. Нижнепермский биогермный массив Шахтау (Башкирия) [Текст] / И.К. Королюк, И.А. Кириллова, Е.Л. Меламуд, Д.М.

Раузер-Черноусова. – Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отд. Геологии. Т. XLV (4), 1970. – с. 46.

3. Отчет о доразведке известняков месторождения Шах-Тау в Ишимбайском районе Республики Башкортостан [Текст]: Отчет о работах за 1994—2002 гг. с подсчетом запасов по состоянию на 01.01.02 г./ ЦКГГП; Исполн. Халиуллина, Ф. Г.; Камышников, А. Н.; Исаев, В. А., 2002. – 73 с.
4. Шамов Д.Ф. Стратиграфия артинских и каменноугольных отложений по фауне фузулинид [Текст] / Д.Ф. Шамов. – За башкирских нефть, 1975г., № 11-12.

Батова О.Н.¹, Немченко Л.А.²

ОСОБЕННОСТИ СОЦИОДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ГНЕЗДОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВАРАКУШКИ (*LUSCINIA SVECICA*) В САРАТОВСКОМ ЗАВОЛЖЬЕ

¹кандидат биологических наук, научный сотрудник, Институт Проблем Экологии и Эволюции им А.Н.

Северцова РАН, г. Москва;

²студент, Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,

Биологический факультет, Москва

SOCIO-DEMOGRAPHIC STRUCTURE OF NESTING POPULATION OF THE BLUETHROAT *LUSCINIA SVECICA* IN SARATOVSKAYA REGION

Batova Olga, Candidate of Biology, Researcher of A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Moscow
Nemchenko Ludmila, Student of Lomonosov Moscow State University, Biological faculty, Moscow

АННОТАЦИЯ

В результате многолетнего мониторинга на постоянных площадках с использованием индивидуального мечения птиц изучена половозрастная структура гнездовых поселений варакушки, а также описано разнообразие и соотношение вариантов репродуктивных связей в попу-

ляции. Показано, что особенности социальной и демографической структуры популяции зависят от плотности гнездования. Выяснено, что типичная для вида социальная моногамия в популяции сочетается с двумя вариантами полигамных связей.

ABSTRACT

As a result of 5-years monitoring of individually marked bluethroat nesting population, we found, that sex and age population structure depends on nesting population density. Also we described different mating systems in the bluethroat, which is known as predominantly socially monogamous species. Results are discussed in the stream of final reproductive success.

Ключевые слова: *Luscinia svecica*, социодемографическая структура популяции, репродуктивные связи.

Key words: *Luscinia svecica*, population density, socio-demographic population structure, mating system.

Введение

Выбор местообитаний у птиц – ключевой элемент приспособленности вида к условиям среды. В тех случаях, когда вид занимает широкий спектр местообитаний с сильно отличающимися характеристиками, в разных местообитаниях могут варьировать отдельные параметры половозрастной структуры и тактика распределения во времени репродуктивных усилий. Это позволяет популяции успешно существовать в меняющихся условиях среды. С другой стороны, многолетний мониторинг параметров социодемографической структуры помогает оценить результат адаптации популяции и прогнозировать ее состояние [1, с. 80].

Варакушка (*Luscinia svecica* Linnaeus, 1758) – широкоареальный вид, занимающий в целом по ареалу разнообразные полуоткрытые кустарниковые местообитания. В европейских популяциях основным вариантом репродуктивных отношений считается моногамия с одной (северные популяции) или двумя кладками за сезон [3, с. 179]. При этом оба родителя принимают участие в выкармливании гнездовых птенцов с момента вылупления и слетков. Случаи полигинии отмечены как разовые явления, никаких попыток количественно оценить это явление не предпринималось [2, с. 146]. В районе проведения работ для варакушки характерно два выводка за сезон, что позволяет пронаблюдать все варианты репродуктивных отношений. В задачи работы входило описать половозрастную структуру гнездовых популяций и оценить разнообразие и соотношение различных вариантов брачных связей у варакушки в Саратовском Заволжье.

Материал и методы

Исследование проводили в подзоне сухих степей Заволжья на территории Дьяковского леса и его окрестностей (Саратовская обл, Краснокутский р-н, с. Дьяковка, 50°31' с.ш., 46°47' в.д.). Дьяковский лес представляет собой самый крупный южный островной лесной массив Европейской России. Он расположен на крайнем юге Саратовской области, в среднем

течении р. Еруслан. Исследования проведены в течение 5 гнездовых сезонов (2010-2014гг.) с апреля по июль. Выделены 3 основных типа местообитаний, населенных варакушкой, заложены модельные площадки.

1) **Степной** тип местообитаний представляет собой залежи разного возраста, где в травянистом ярусе преобладают полыни (*Artemisia* sp), ковыли (*Stipa* sp.), типчак (*Festuca valesiaca* Gaud.) и др.. Присутствуют заросли кустарниковой формы полыни высокой (*Artemisia abrotanum* L.), отдельные группы других кустарников (в основном, терн *Prunus spinosa* L) высотой не более 1,5 м. Имеются локальные понижения, балки, весной заливаемые водой. Размер пробной площади – 31 га.

2) **Приречный** тип местообитаний вытянут узкой полосой (до 50 м) вдоль р. Еруслан. Состоит из тростниковых зарослей, высокотравья и кустарников (ивы *Salix* sp., лох *Elaeagnus angustifolia* L., терн), высотой до 2-4 м. Присутствуют отдельные группы деревьев (клен ясенелистный, *Acer negundo* L., тополь белый *Populus alba* L. и др.), как правило, высотой до 6-7 м. Размер пробной площади - 23 га.

3) **Лесной** тип местообитаний расположен внутри массива Дьяковского леса. Состоит из лесных колков площадью от 0,1 до 10 га с разнообразным составом древостоя. Во многих колках имеются значительные понижения, заросшие ивами, осоками, реже тростником, весной заливаются водой, иногда вода стоит в течение всего сезона. По краям колков и в местах частичных рубок образуются участки кустарниковой степи, основные кустарники – спирея (*Spiraea hypericifolia* L.), терн и боярышник (*Grataegus curvicaulis* Lindm.). Колки чередуются с фрагментами псаммофитно-злаковой степи. Размер пробной площади 57,5 га.

На постоянных модельных площадках ежегодно проводили площадочные учеты с картированием гнездовых территорий. Также производился отлов с помощью паутинных сетей и мечение птиц индивидуальной комбинацией цветных и алюминиевых колец. При поимке птица подвергалась стандартной прижизненной обработке, что позволяло определять участие в размножении, стадию гнездового цикла и возраст особей с разделением на 2 когорты: годовалые особи и птицы от 2-х лет и старше. В дальнейшем в течение всего сезона наблюдали за индивидуально распознаваемыми особями. Всего помечено 483 взрослых особи. Одновременно с этим проводили поиск и регулярную проверку гнезд, фиксируя фазу гнездового цикла, размер кладки или количество птенцов, результат гнездования, индивидуальные метки родителей. Прослежена судьба 263 гнезд.

Результаты и обсуждение

По результатам площадочных учетов была рассчитана плотность населения варакушки в основных местообитаниях. Самый высокий показатель

плотности в приречном комплексе местообитаний (21,3 пар/10га). Значительно ниже – на степном (8,4), и лесном (1,8) участках. Такие различия связаны с неравномерной пригодностью выделенных типов местообитаний. Приречный тип местообитания характерен для вида в целом и расположен узкой полосой вдоль русла реки, что приводит к повышению плотности, обычному для ленточных местообитаний. Степной тип местообитаний состоит из участков, где присутствуют кустарники и высокотравье, и участков низкотравной степи. Микростообитания, где полностью отсутствует кустарниковая растительность, используются лишь для кормежки. Лесной тип местообитаний наиболее мозаичен и состоит из фрагментов с резко различными условиями. Варакушка здесь не образует сплошных поселений, а

гнездится отдельными парами или группами по 2-3 пары на участках кустарниковой степи по краям лесных колков или в заросших кустарниками влажных понижениях внутри колков.

Результаты прижизненной обработки птиц при кольцевании позволили изучить соотношение годовалых (когорты «1») особей и птиц от 2-х лет (когорты «2+») в гнездящейся популяции (рис. 1). Оно значительно отличается в трех местообитаниях. На степных и приречных участках доля «взрослых» особей около 70% и достоверно отличается (тест пропорций, $p < 0,001$) от доли «взрослых» птиц на лесном участке. Кроме того, на модельных площадках в этих местообитаниях велика доля возвратов особей, окольцованных в предыдущие годы (до 40%). На лесном участке возврат зарегистрирован лишь однажды.

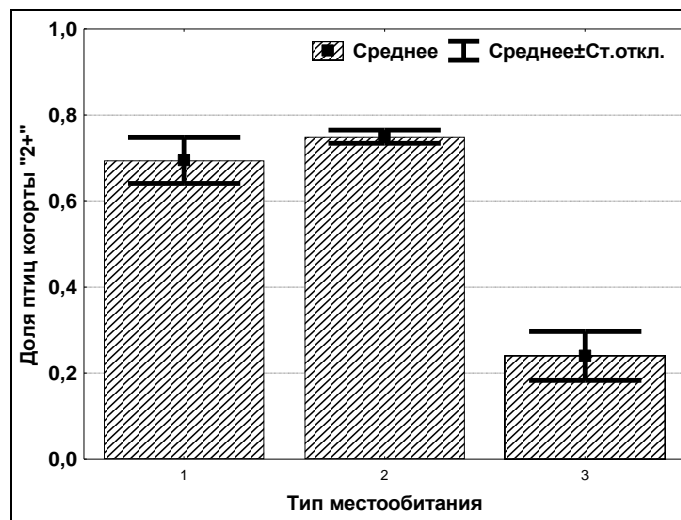


Рисунок 1. Возрастная структура популяции варакушки в трех основных местообитаниях.

Такое соотношение птиц разных возрастов связано, по-видимому, с оптимальностью местообитаний, включая защитные и кормовые условия, а также сроки освобождения от снега и развития растительности.

Соотношение полов в популяции изучено по результатам учетов и наблюдений за мечеными пти-

цами. В течение периода массового гнездования ежегодно сделано по 3 временных среза – учета присутствующих на площадках птиц обоих полов. При этом из результатов учета исключены особи, зарегистрированные при наблюдениях менее 2-х раз в течение всего гнездового сезона, как не обитающие постоянно в пределах пробной площади.



Рисунок 2. Соотношение полов в гнездящейся популяции варакушки.

В результате выяснено (рис.2), что как в отдельных местообитаниях, так и в целом, соотношение близко к 1:1, незначительно уклоняясь в сторону самцов. При таком соотношении следовало бы ожидать, что основным типом репродуктивных связей будет характерная для вида моногамия. Однако наблюдения за мечеными птицами показывают, что это не так.

Кроме типичной моногамии с 2-мя кладками за сезон в популяции варакушки постоянно присутствуют 2 других системы социальных связей: последовательная полигамия (смена социального партнера между циклами размножения) и параллельная полигиния, когда два цикла размножения одного самца с разными самками перекрываются по срокам. Эти варианты социальных отношений присутствуют ежегодно в тех местообитаниях, где плотность населения высока – степном и приречном. Изучая соотношение разных типов репродуктивных связей, в анализ включили лишь тех особей, для которых удалось проследить более одной гнездовой попытки. В случае самцов таких особей в среднем ежегодно оказывается около половины от всех, имеющих гнездовые участки в пределах пробных площадей. Среди них доля самцов, меняющих самку на второй цикл гнездования, варьирует от 31 до 55% (в среднем 44,5%). Доля самцов, демонстрирующую параллельную полигинию, составляет 18-29% (в среднем 23%). Моногамов, совершающих две и более гнездовых попытки за сезон с одной и той же самкой, оказывается лишь около трети – в среднем за 5 лет 30,5%.

Долю самок, меняющих партнера между гнездовыми попытками, сложно оценить, поскольку известно, что самки в отличие от самцов нередко меняют гнездовой участок после первых гнездовых попыток, как удачных, так и неудачных. При этом они перемещаются на значительные расстояния (1 км и более). В среднем лишь для 20% самок удается пронаблюдать две и более гнездовых попытки за сезон. Моногамия и смена партнера между гнездовыми попытками присутствуют ежегодно. Зарегистрирован лишь один случай, когда птенцов в гнезде вместе с самкой выкармливали два самца, что, по-видимому, скорее носило характер помошничества, чем типичной полиандрии.

В лесном местообитании варакушки не образуют сплошных поселений, период гнездования зна-

чительно короче, чем в других местообитаниях, вторые гнездовые попытки редки: лишь однажды был зарегистрирован случай последовательной полигинии.

По результатам данного исследования можно утверждать, что характер распределения репродуктивных усилий тесно связан с оптимальностью местообитания и, соответственно, плотностью гнездовых поселений. На наиболее пригодных участках на фоне высокой плотности и значительной доли «взрослых», опытных особей наблюдается значительное разнообразие репродуктивных тактик. В местообитаниях, где гнездятся лишь отдельные пары, присутствуют только моногамные отношения, как правило, лишь с одной, независимо от успешности, гнездовой попыткой за сезон.

Заключение

Таким образом, в Саратовском Заволжье варакушка занимает разнообразные типы местообитаний, и плотность гнездовых поселений влияет на половозрастную структуру популяции и типы репродуктивных связей. В pessимальных местообитаниях варакушки гнездятся отдельными парами, как правило, совершают одну гнездовую попытку за сезон, образуя моногамные связи. В плотных поселениях значительное число птиц проходит два гнездовых цикла за сезон, при этом демонстрируя разные варианты брачных отношений. Такое варьирование репродуктивных тактик в популяции обеспечивает успех размножения популяции в изменчивых от года к году условиях среды.

Литература:

1. Block W.M., Brennan L.A. 1993. Habitat concept in ornithology. *Current Ornithology*. (Ed. by D.M.Power). Plenum Press, New York. 11: 35-91.
2. Fossoy F., Johnsen, A., Lifjeld, J.T. 2008. Multiple genetic benefits of female promiscuity in a socially monogamous passerine. *Evolution*. 62(1): 145-156.
3. Geslin T., Questiau S., Eybert M.C. 2004. Age-related improvement of reproductive success in Bluethroats *Luscinia svecica*: Capsule Young birds are less likely to have high reproductive success compared with older ones because of a lack of several skills influencing breeding performance. *Bird Study*. 51(2):178-184.

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

Щепеткина С.В.¹, Степанова А.П.², Ловцова Л.Б.³, Проккоева Ж.А.⁴

СИМБИОТИЧЕСКИЙ БИОКОМПЛЕКС НА ОСНОВЕ ЛАКТОБАКТЕРИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫЙ В КОРМОВЫХ ПРОДУКТАХ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ

*¹канд. ветер. наук, ГК «ЗДОРОВЬЕ ЖИВОТНЫХ»,
²ст.н.с., ³ст.н.с., ⁴научн.сотр., ГНУ ВНИИЖ Россельхозакадемии*

Лактобактерии (род *Lactobacterium*) – вторая по численности и по значимости группа резистентной флоры желудочно-кишечного тракта у животных и птиц. Эти бактерии ферментируют большое количество углеводов и спиртов, отдельные представители данного рода вызывают гидролиз крахмала и синтезируют белки, способны синтезировать многочисленные антибиотические вещества (бактериоцины). Лактобактерии играют важную роль в становлении иммунитета [2].

Роль симбиотической флоры кишечника в жизни организма животных и птиц велика. Главные её свойства заключаются в следующем:

1. Колонизационная резистентность. Все живые существа ежесекундно контактируют с миллиардами микробов — это нормально и вполне безвредно, до тех пор, пока между организмом и внешней средой защитным барьером находится биопленка, содержащая симбионтную флору. В кишечнике условия еще более располагающие к росту микробных популяций, и там конкурентные свойства симбионтов не позволяют развиваться культурам патогенных организмов. Кроме непосредственно вытеснения патогенных микробов, нормофлора активизирует различные звенья иммунной системы, регулируя неспецифический и специфический клеточный и гуморальный иммунитет.

2. Детоксикация. Симбиотическая флора активно нейтрализует, разлагает и инактивирует токсины и канцерогенные вещества, являющиеся непереваренными продуктами или поступившими из внешней среды, по данным исследований, симбиотическая флора нейтрализует до 60 % токсических веществ в просвете кишечника, до их контакта со слизистой оболочкой. Таким образом, нормофлора снижает токсическую нагрузку на печень и предотвращает химическое повреждение клеток кишечного эпителия.

3. Участие в процессе пищеварения. Подавляющее большинство высших животных самостоятельно усваивают только самые простые углеводы,

практически не нуждающиеся в преобразовании. Например, сахар и спирт. Полисахариды, не говоря уже о клетчатке, пригодны к усвоению макроорганизмом только при участии симбиотических микробов, сходные процессы сопровождают усвоение жиров и в меньшей степени белков.

4. Синтез. Параллельно с процессами разложения нутриентов, нормофлора синтезирует витамины (в основном группу В), аминокислоты, гормоны и другие необходимые соединения.

В норме сформировавшееся сообщество микроорганизмов (микро-биоценоз) устойчиво и пребывает с организмом – хозяином в течении всей жизни. Польза и необходимость симбионтов очевидны, так же очевидны и причины нарушения естественного состава микробной популяции кишечника – условия жизни животных далеки от естественных. Слишком много особей на единицу площади, сублимированная пища, далекий от природного состав воды и воздуха, редкий моцион, эмоциональный дискомфорт. Для симбиотической флоры это означает огромную конкурентную нагрузку, недостаток питательного субстрата, нехарактерные или слишком нестабильные условия внутренней среды. По статистике, заболеваниями органов пищеварения страдают более половины животных и птиц [5].

Предпосылками к исследованиям послужили такие причины, как изменение микробиоценозов (дисбактериоз кишечника). Эволюционно созданный барьер колонизационной резистентности макроорганизма снижается, а, следовательно, повышается вероятность восприимчивости и возникновения инфекционных заболеваний бактериальной или вирусной природы.

Нарушения микробиоценозов лежат в основе возникновения и развития не только многих инфекционных, но и подавляющего большинства других заболеваний животных.

Потенциальная терапевтическая активность пробиотиков, безусловно, определяется их штаммо-

вой формулой, т.е. свойствами образующих их бактерий. Вместе с тем большое значение имеет и лекарственная форма препарата, предопределяющая реализацию лекарственного потенциала бактериальных штаммов. Это необходимо учитывать при составлении эффективных терапевтических схем применения пробиотиков. При этом необходимо, чтобы лекарственная форма пробиотика обеспечивала контактные взаимодействия активно метаболизирующих клеток препарата и возбудителя заболевания, который находится в пилорическом отделе желудка. Из самых общих представлений ясно, что прием растворенной в воде суспензии препарата не эффективен, так как при приеме перорально бактериальные клетки инактивируются желудочным соком. Прием кишечнорастворимых капсул не эффективен по причине длительного промежутка времени (10-20 часов), необходимого для растворения последних в кишечнике и активации лиофилизированных клеток. Соответственно лекарственное действие капсул может проявляться только на уровне толстой кишки [4].

Для исследований действия был выбран Мультибактерин ОМЕГА-10 – первый ветеринарный пробиотик, содержащий симбиотическую систему двух штаммов ацидофильных лактобацилл. При развитии бактерий Мультибактерин ОМЕГА-10 в молоке происходит закисление среды, в результате чего вокруг клеток образуются зерна денатурированного казеина. Поэтому в кисломолочном продукте бактериальные клетки, находящиеся в активном состоянии, защищены от инактивирующего действия желудочного сока денатурированным казеином молока. Как следствие, лекарственное действие пробиотика начинает осуществляться непосредственно на уровне желудка.

Опыт применения Мультибактерин ОМЕГА-10 в клинической практике показал, что препарат обладает высокой терапевтической активностью у разных видов животных. Врачи стали его использовать, опираясь на рекомендации по применению других пробиотиков (практически все пробиотики имеют идентичные рекомендации по лечебному и профилактическому применению). За период с 1998 по 2009 г. на базе ветеринарных клиник, частных конюшен и животноводческих хозяйств и птицефабрик Санкт-Петербурга и Ленинградской области проведено исследование применения Мультибактерин ОМЕГА-10, в котором участвовало более 1000 животных разных видов. Выявлена его эффективность в терапии следующих состояний: дуоденитов, диспепсии; неинфекционных и инфекционных заболеваний печени; первичных и вторичных иммунодефицитов (местных и системных); гинекологических воспалительных заболеваний кандидозной, бактериальной и вирусной природы; пародонтоза, стоматита, гингивита и других заболеваний десен и слизистой полости рта; атопического дерматита, других

аллергических заболеваний; для облегчения состояния и общего укрепления организма при антибиотикотерапии, дегельминтизации, вакцинации, хирургических операциях.

Действующим началом препарата являются жизнеспособные клетки двух штаммов молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus*, специально подобранных по медико-биологическим свойствам. При определенных условиях (ноу-хау) штаммы образуют симбиоз, который усиливает их полезные свойства: расширяет спектр и уровень антагонистической активности, повышает устойчивость к терапевтическим дозам ряда антибиотиков, увеличивает содержание жизнеспособных клеток и длительность хранения препарата [1].

Терапевтическая эффективность Мультибактерина ОМЕГА-10 обусловлена биологическими свойствами образующих его штаммов – высокой скоростью роста, широким спектром антагонистической активности и устойчивостью к ряду антибиотиков в терапевтических дозах. При приеме через рот штаммы, входящие в состав препарата, способствуют коррекции качественного и количественного состава слизистой микрофлоры кишечника, оказывают иммуномодулирующее действие, повышают неспецифический иммунитет.

Мультибактерин ОМЕГА-10 проявляет выраженный антагонизм в отношении музейных штаммов и клинических изолятов дрожжей рода *Candida*; бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, энтеропатогенных *E.coli*, *Citrobacter freundii*, *Shigella sonnet*, *S. flexneri*, *P.aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* (но не ассоциаций *Klebsiella + Proteus*). Антагонизм Мультибактерина ОМЕГА-10 опосредован продукцией молочной кислоты и специфической антибиотикоподобной субстанции пептидной природы. При этом Мультибактерин ОМЕГА-10 не угнетает представителей нормальной микрофлоры кишечника, которые, в свою очередь, не проявляют антагонизма к Мультибактерин ОМЕГА-10.

Мультибактерин ОМЕГА-10 устойчив к терапевтическим дозам аминогликозидов (стрептомицину, неомицину, канамицину, гентамицину, тобрамицину, амикацину, шизомицину, нетилмицину), некоторым цефалоспорином (цефаклору, цефтазидиму), а так же тетрациклину, доксициклину, рифампицину, офлоксацину, ципрофлоксацину, фурагину, фузидину и др. на фоне которых можно проводить комплексную терапию. Вместе с тем Мультибактерин ОМЕГА-10 чувствителен к пенициллинам (за исключением оксациллина), большинству цефалоспоринов и макролидов. При использовании этих антибиотиков Мультибактерин ОМЕГА-10 необходимо принимать после отмены антибактериального препарата.

Биохимический анализ Мультибактерина ОМЕГА-10 показывает, что в продукте значительно

снижено содержание лактозы; отсутствуют высокомолекулярные белки, которые могут быть антигенами; сбалансирован состав аминокислот, в том числе, незаменимых; присутствуют витамины бактериальной природы. По данным клинических испытаний кисломолочный продукт нормализует состав микрофлоры кишечника и других полостей организма животных; восстанавливает бифидо- и лактофлору в укороченные сроки; подавляет условно-патогенную флору, в т. ч. грибы рода *Candida*; стимулирует перистальтику кишечника, улучшает пищеварение; стимулирует иммунитет; снижает уровень аллергических реакций [3].

Анализ динамики клинических симптомов при использовании двух схем терапии показал, что Мультибактерин ОМЕГА-10 эффективен как в комплексной терапии с прокинетики и желчегонными препаратами, так и в качестве монотерапии в купировании основных клинических признаков, обусловленных избыточной микробной контаминацией кишечника. На фоне включения в комплексную терапию Мультибактерин ОМЕГА-10 отмечалась положительная динамика клинических проявлений болезни: повышение аппетита, уменьшение проявлений хронической интоксикации, исчезновение болей в животе на 4 день приема препарата. Купирование диареи, полифекалии, стеатореи констатировано на 6 день. К окончанию лечения у большинства пациентов купировались боли в животе, а также имело место существенное уменьшение частоты выявления астеновегетативного синдрома. Клинические симп-

томы коррелировали с изменениями в составе кишечной флоры, что подтверждает их патогенетическую связь.

Список литературы

1. Лисицын А.Н., Григорьева В.Н., Щепеткина С.В. и соавт. Особенности применения пробиотических продуктов на основе *Lactobacillus acidophylus* в птицеводческих хозяйствах // Мат.межд.конгресса «Перспективы развития агропромышленного комплекса России в условиях членства в ВТО», СПб, 2013, с. 149-151.
2. Щепеткина С.В. Контроль болезней птиц бактериальной этиологии с использованием биоконкомплексов пробиотических микроорганизмов // Мат.Х Балтийского форума ветеринарной медицины и продовольственной безопасности, СПб, 2014, с. 182-183.
3. Фисинин В.И. Птицеводство 2011: итоги года и перспективы развития с учетом вступления в ВТО// Сб. "Сельское хозяйство в России: БИЗНЕС-Партнёр», Москва, 2011.
4. Щепеткина С.В. Кузьмин В.А., Кудрявцева А.В. и соавт. Пробиотики в гастроэнтерологии птиц. - Ж. Ветеринария в птицеводстве, № с. 12-20.
5. <http://www.agritimes.ru/news/14852/vse-krupnye-pticefabriki-ssha-ispolzuyut-antibiotiki-pri-vyrashivanii-kur#sthash.9c2ny7vF.HIRzrbK.dpuf>.

Шумилина Н.Н.¹, Новиков М.В.²

ВЛИЯНИЕ УСКОРЕНИЯ РОСТА ВОЛОСЯНОГО ПОКРОВА ШИНШИЛЛ НА КАЧЕСТВО ШКУРОК

¹профессор, доктор сельскохозяйственных наук, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии, г. Москва;

²кандидат технических наук, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии. И.о. декана факультета Товароведения и экспертизы сырья животного происхождения, г. Москва

THE IMPACT OF INTENSIFICATION GROWTH OF HAIR ON THE QUALITY OF FUR SKINS

Shumilina Natalia, Professor, Doctor of Sciences, Scriabin Moscow state Academy of veterinary medicine and biotechnology, Moscow

Novikov Mikhail, Candidate of Sciences, Scriabin Moscow state Academy of veterinary medicine and biotechnology Acting Dean of the faculty of Commodity research and examination of raw materials of animal origin, Moscow

АННОТАЦИЯ

Описаны особенности течения линьки волосяного покрова у шиншиллы. Рассмотрены способы регулирования

срока линьки и сокращения ее продолжительности, условия интенсификации роста волосяного покрова шиншиллы. Показано влияние температурного и светового режима на степень роста волос у шиншиллы. Изучена высота волосяного покрова шиншиллы различных цветовых типов.

ABSTRACT

The article describes the features of chinchillas moulting hair flow, methods of molting regulation period and its reduction duration, the conditions of intensification of chinchillas hair growth. It shows the influence of temperature and light conditions on the degree of chinchillas hair growth, the characteristics of hair height for different chinchillas coating color types.

Ключевые слова: волосяной покров; шкурка шиншиллы; ускорение роста волос

Keywords: hair coat; skin chinchilla; «priming»

На протяжении всего года шиншиллам при-
суща *перманентная внесезонная линька*, включаю-
щая периоды краткого относительного покоя и про-
должительной смены волосяного покрова, а также

характерно отсутствие *выраженного сезонного и по-
лового диморфизма* в строении и окраске волосяного
покрова. У взрослых шиншилл непрерывно происхо-
дящая линька носит пятнистый, диффузный харак-
тер, волосяной покров обновляется по направлению
от головы к огузку. О зрелости волосяного покрова
шиншилл можно косвенно судить по интенсивности
пигментации кожного покрова, характеризующей
наличие роста новых волос (рис. 1).

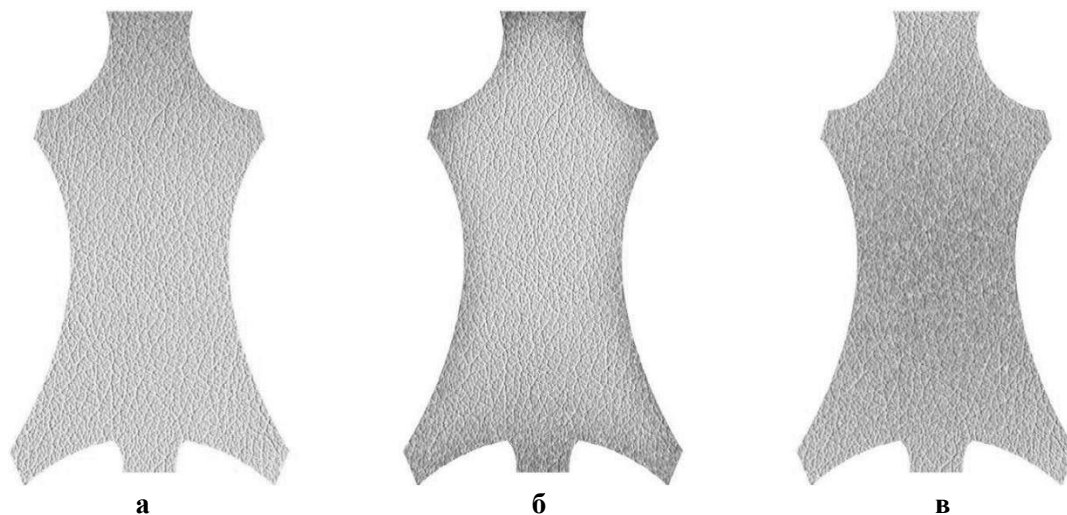


Рисунок 1. Пигментация кожной ткани шкурок шиншилл при созревании волосяного покрова: а) зрелый волосяной покров, б) в процессе линьки, в) после линьки

Рост новых волос из открытых пор ослабляет
кожный покров и снижает его плотность и эластич-
ность. В процессе созревания волосяного покрова
цвет кожного покрова в целом или на отдельных ча-
стях меняется от синевато-голубого до кремово-бе-
лого, а при перезревании до розоватого. О *заверше-
нии роста волос* свидетельствует молочный или те-
лесный цвет кожного покрова и его плотная струк-
тура. Интенсификация работы сосудов для питания
волосяных фолликул отражается в появлении голу-
бой пигментации на участках кожного покрова, сиг-
нализирующей о росте новых волос. Прорастание
новых волос ведет к разрыхлению структуры дермы
и эпидермиса и снижению плотности кожного по-
крова. Следует отметить, что несмотря на заверше-
ние роста волос на каждом покрове могут оставаться
зоны голубого цвета, что не снижает ценности шку-
рок шиншилл при безупречности волосяного по-
крова [4].

Как правило, у 11-месячного зверька стабиль-
ное состояние созревшего волосяного покрова
длится до 30 дней весной, 15-20 дней осенью-зимой,
а в летнее время 8-10 дней [4]. У отдельных особей
волосы растут постоянно, находясь в состоянии пер-
манентной, диффузной линьки в течение круглого
года, а кожный покров так и не приобретает молоч-
ный цвет. У других – наблюдается одновременный
подрост волос на огузке и перезревание меха на за-
гривке и шее. Некоторые шиншиллы всегда имеют

ровный привлекательный волосяной покров, рост ко-
торых можно определить только по изменению цвета
кожного покрова. Независимо от сезона в одном
стаде отдельные особи отличаются различной степе-
нью созревания волосяного покрова при достаточ-
ной густоте меха у всех шиншилл.

По мнению польских исследователей у взрос-
лых шиншилл может происходить две линьки в год
[8], по данным аргентинских специалистов волосы
взрослых шиншилл обновляются каждые 111 дней
[4]. Венгерскими учеными на созревание меха мо-
лодняка отводится 278 дней [9], а российскими уче-
ными отмечается одна нечетко выраженная весенне-
летне-осенняя линька шиншилл со значительными
индивидуальными отклонениями в сроках и после-
довательности линьки [1, с.103].

Для шиншилл характерна *компенсационная
линька* волосяного покрова, что связанная с меха-
ническими повреждениями меха при привычном пере-
мещении зверьков через узкие щели или с механиз-
мом защиты от хищников путем сброса пучков во-
лос, возможного благодаря мгновенному ослабле-
нию связи волос с кожным покровом на отдельных
участках. Компенсационная линька шиншилл также
может быть вызвана реакцией на снижение и резкие
колебания температуры воздуха.

Основными показателями превосходного ка-
чества шкурок шиншиллы принято считать плотную
структуру кожной ткани, достижение созревания

волосяного покрова и завершения роста волос, отличающихся высокой густотой, шелковистостью и уравниенностью [2; 3]. Для улучшения качества шкурок и снижения их себестоимости важно регулировать сроки линьки и сокращать ее продолжительность.

Технология ускорения роста волосяного покрова шиншиллы «*Priming*» базируется на механизме интенсивного наращивания объема волосяного покрова при перемещении зверьков из теплых условий обычного обитания в более холодную среду [6] и чаще всего применяется для стимулирования роста волосяного покрова у 6-7 месячных щенков, для их подготовке к убою наравне с 9-10 месячными. Технология ускорения роста волос «*Priming*» требует обеспечения в помещении хорошей вентиляции, освещенности и контролируемой температуры 5-10°C в течение трех месяцев и затем 10-15°C [5, с.43-44]. Искусственное сокращение светового дня ускоряет созревание волосяного покрова шиншиллы, как и повышение степени освещенности, рекомендуемым значением которой является 61-80 лк [7].

Проведенное экспериментальное исследование позволило установить, что волосяной покров шиншиллы в большей мере характеризуют пуховые и остевые волосы, в то время как направляющие составляют менее 1% от общего количества волос.

Направляющие волосы шкурок шиншиллы обладают наибольшей истинной и естественной длиной на участке хребта и отсутствуют на череве. Длина остевых волос уменьшается от хребта, к огузку и боку, до самых коротких волос на череве. В то же время пуховые волосы распределяются по длине иначе: самые длинные – на череве, затем – на хребте, покороше – на огузке и самые короткие - на боках. Различия между показателями истинной и естественной длины волос шкурок шиншиллы незначительны и в среднем составляют 1-2 мм, что указывает на слабую степень извитости волос независимо от принадлежности к категории.

Согласно полученным результатам разные цветовые типы окраски волосяного покрова доминировали на различных участках шкурок шиншиллы, однако все категории волос «стандартной» окраски отличались значительно меньшей длиной и имели более широкое нормальное распределение высоты волосяного покрова (рис.2).

Таким образом, можно отметить, что в результате селекции шиншиллы по цветовому типу увеличивается высота и уравниенность волосяного покрова шкурок для всех категорий волос, что способствует улучшению внешнего вида и повышению ценности шкурок.

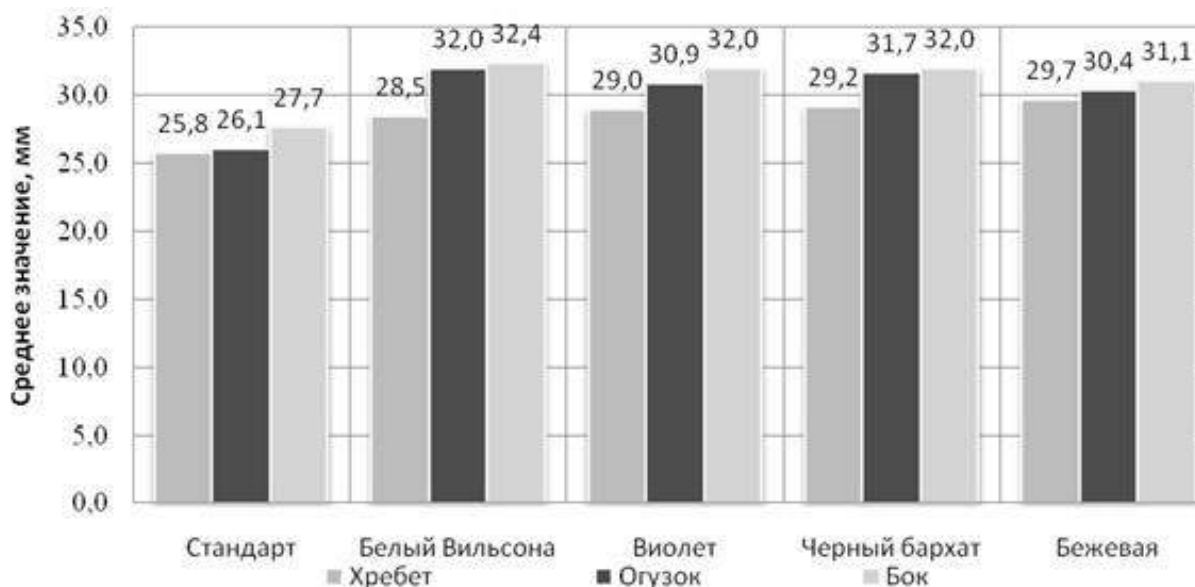


Рисунок 2. Распределение высоты подпуши волосяного покрова по топографическим участкам шкурок шиншиллы в зависимости от цветового типа

Можно сделать вывод, что возможность стимулировать достижение зрелости волосяного покрова шкурок шиншиллы различных цветовых типов в определенные сроки, независимо от permanently проходящей линьки, способствует повышению качества шкурок шиншиллы и рентабельности их производства.

Литература:

1. Кирис И.Б. 1973. Биология длиннохвостой шиншиллы: дис.... к.б.н./ ВНИИОХЗ, Киров.163 с.
2. Новиков М.В. 2010. Разработка методов оценки качества шкурок шиншиллы и совершенствование процессов их производства: дис.... к.т.н./ МГАВМиБ; МГУДТ, Москва. 156 с.

3. Шумилина Н.Н., Чекалова Т.М., Митрофанова М.В. 2007. Особенности качества опушения у цветных форм лисиц (*Vulpes vulpes*)// Вавил. журн. ген. и сел. 11 (1):131-138.
4. Aleandri F. 2002. Cría y comercialización de la chinchilla. В.-А.: El autor. 422p.
5. Berdux C., Berdux V. 1969. The Berdux method of Chinchilla raising. Toronto: Fur trade journ. of Can. 64 p.
6. Clark J. 1961. Modern Chinchilla Farming.- Toronto: Fur Trade Journ. of Can.195 p.
7. Felska-Błaszczuk L. 2005. Znaczenie światła w hodowli szynszyli. Część II - wpływ światła na okrywę włosową szynszyli// Biul. Inf. Hodow. Szyn. 2:28-30.
8. Jarosz S., Rzewski W. 1985. Chow szynszyli. Warszawa: PWRiL.152 p.
9. Lanszki J., Allain D., Thébault R.G., Szendrő Zs. 2000. The effects of melatonin treatment on feed intake, body weight, fur maturation period and fur length in growing chinchillas// Scientifur.4:168-173.

ЭНТОМОЛОГИЯ

Трушицына О.С.¹, Ананьева С.И.²

ЖУЖЕЛИЦЫ (COLEOPTERA, CARABIDAE) ЛУГОВЫХ ЭКОСИСТЕМ ЗАПОВЕДНИКА ПАСВИК

¹кандидат биологических наук, Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, г. Рязань

²кандидат биологических наук, доцент, Рязанский государственный университет имени С.А. Есенина, г. Рязань

THE GROUND BEETLES (COLEOPTERA, CARABIDAE)
OF MEADOW ECOSYSTEMS OF THE PASVIK RESERVE

Trushitsina Olga

Candidate of Sciences, Ryazan State University named for S.A. Yesenin, Ryazan

Ananyeva Svetlana, Candidate of Sciences, associate
Professor, Ryazan State University named for S.A. Yesenin,
Ryazan

АННОТАЦИЯ

В статье приводятся новые сведения по карабидо-фауне луговых экосистем заповедника Пасвик. Предлагаемый список включает 23 вида жужелиц из 10 родов, 11 видов ранее не указывались для данной территории.

ABSTRACT

The article presents new data on the fauna of ground beetles of meadow ecosystems of the Pasvik Reserve. This annotated check-list includes 23 species of Carabidae from 10 genus, 11 species were not specified earlier for this territory.

Ключевые слова: фауна, жужелицы, луговые экосистемы.

Keywords: fauna, ground beetles, meadow ecosystems.

Инвентаризация фауны имеет большое значение для сохранения биологического разнообразия природоохраненных территорий. Сведения, полученные в рамках данных исследований, могут быть использованы при планировании и проведении природоохраненных мероприятий, а также при мониторинге состояния окружающей среды и при составлении региональных фаунистических списков.

Семейство Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) характеризуется высоким видовым разнообразием и численным обилием. Эти почвенные жуки играют

важную роль в сложении и функционировании большинства природных экосистем, что делает их удобным модельным объектом при проведении различного рода экологических исследований [1].

Государственный природный заповедник «Пасвик» был организован в 1992 г. и является одним из самых молодых на территории Мурманской области. Инвентаризация фауны жужелиц на данной природоохранной территории началась сравнительно недавно [2, 3, 5, 6, 7, 8]. В основном исследования затронули лесные биотопы [8], также имеются видовые списки Carabidae по горным экосистемам [2, 3], часть сведений получена при изучении влияния промышленного загрязнения на сообщества этих насекомых [6, 7]. Однако данные по видовому составу жужелиц луговых экосистем для заповедника полностью отсутствуют.

Изучение фауны луговых экосистем заповедника «Пасвик» проводили в 2012 г. на трех модельных площадках. Жужелиц собирали с мая по июнь почвенными ловушками, в качестве которых использовались пластиковые стаканы, заполненные на одну треть раствором формалина. На каждой модельной площадке функционировало по 20 ловушек, которые располагались в две линии по 10 в каждой.

Система Carabidae дана по «Систематическому списку жужелиц (Carabidae) России» [4], номенклатура – по каталогу жесткокрылых Палеарктики [10].

В результате проведенных исследований было выявлено 23 вида жужелиц из 10 родов, 11 видов для данной территории приводятся впервые.

Таблица 1

Видовой состав жужелиц луговых экосистем заповедника «Пасвик»

№	Вид	Уловистость (в экз.)
1	<i>Notiophilus aquaticus</i> (Linnaeus, 1758)	6
2	<i>N. germinyi</i> Fauvel, 1863	1
3	<i>N. biguttatus</i> (Fabricius, 1779)	1
4	<i>Carabus glabratus</i> Linnaeus, 1758	16
5	<i>Loricera pilicornis</i> (Fabricius, 1775)	20

№	Вид	Уловистость (в экз.)
6	<i>Patrobus assimilis</i> Chaudoir, 1844	2
7	<i>P. septentrionis</i> Dejean, 1828*	2
8	<i>Pterostichus diligens</i> (Sturm, 1824)*	45
9	<i>P. adstrictus</i> Eschscholtz, 1823	5
10	<i>Calathus melanocephalus</i> (Linnaeus, 1758)	3
11	<i>C. micropterus</i> (Duftschmid, 1812)	25
12	<i>Agonum ericeti</i> (Panzer, 1809)	1
13	<i>A. fuliginosum</i> (Panzer, 1809)	2
14	<i>Amara communis</i> (Panzer, 1797)*	4
15	<i>A. familiaris</i> (Duftschmid, 1812)*	1
16	<i>A. lunicollis</i> Schiødte, 1837*	88
17	<i>A. nitida</i> Sturm, 1825*	1
18	<i>A. ovata</i> (Fabricius, 1792)*	1
19	<i>A. erratica</i> (Duftschmid, 1812)*	7
20	<i>A. interstitialis</i> Dejean, 1828*	1
21	<i>Dicheirotichus placidus</i> Gyllenhal, 1827*	7
22	<i>Harpalus latus</i> (Linnaeus, 1758)*	1
23	<i>H. solitarius</i> Dejean, 1829	1
	Итого	241

Условные обозначения: * – виды, впервые указанные для заповедника Пасвик

Фауна жуужелиц заповедника «Пасвик» характеризуется низким таксономическим разнообразием и высокой видовой специфичностью, что в целом характерно для северных регионов [9]. Наибольшее видовое богатство Carabidae отмечено для родов *Amara* (7 видов) и *Notiophilus* (3), остальные рода представлены 1-2 видами. В число доминантов, численное обилие которых превышало 5%, вошли 5 видов: *C. glabratus*, *L. pilicornis*, *P. diligens*, *C. micropterus*, *A. lunicollis*.

Литература:

1. Гиляров М.С. 1965. Зоологический метод диагностики почв. М: 1-278.
2. Зенкова И.В. 2012. К материалам по почвенной фауне Государственного природного заповедника «Пасвик» (Мурманская область). Поведение, экология и эволюция животных: монографии, статьи, сообщения. Сб. Научных трудов РГУ имени С.А. Есенина (Серия Зоологическая). Под общей ред. И.А. Жигарева. Т. 3. Рязань: 313-329.
3. Зенкова И.В., Колесникова А.А., Филиппов Б.Ю., Вершинина С.Д., Трушицына О.С., Нехаева А.А. 2013. Материалы к фауне пауков и жесткокрылых горной системы заповедника «Пасвик» // Зеленый пояс Фенноскандии: материалы международной научно-практической Конференции. Петрозаводск: 137-138.
4. Макаров К.В., Крыжановский О.Л., Белоусов И.А., Замотайлов А.С., Кабак И.И., Катаев Б.М., Шиленков В.Г., Маталин А.В., Федоренко Д.Н. 2010. Систематический список жуужелиц (Carabidae) России. http://www.zin.ru/Animalia/Coleoptera/rus/car_rus.htm.
5. Полевой А.В., Хумала А.Э. 2011. Насекомые. Летопись природы заповедника «Пасвик». Кн. 15 (2008). Апатиты: 153-156, 264-299.
6. Трушицына О.С., Ананьева С.И. 2012. Оценка состояния наземных экосистем по данным биологического мониторинга (на примере жуужелиц). Кольская горно-металлургическая компания (промышленные площадки «Никель» и «Заполярный»): влияние на наземные экосистемы. Рязань: 52-59.
7. Трушицына О.С., Жиряков С.М., Щербакова Г.П. 2007. Роль жуужелиц (Coleoptera, Carabidae) в оценке окружающей среды на промышленно загрязненных территориях в условиях северо-запада Кольского полуострова. Экология, эволюция и систематика животных: сб. научн. трудов каф. зоологии и методики обучения биологии РГУ. Рязань: 117-122.
8. Трушицына С.С. 2007. Фауна жесткокрылых насекомых (Insecta, Coleoptera) заповедника «Пасвик» и прилегающих к нему территорий – аннотированный список видов. Экология, эволюция и систематика животных: сб. научн. трудов каф. зоологии и методики обучения биологии РГУ. Рязань: 123-128.
9. Чернов Ю.И. 2008. Экология и биогеография. Избранные труды. М.: 1-580.
10. Löbl I. & Smetana A. (Eds.). 2003. Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 1. Archostemata, Mxophaga, Adepaga. Eds. Apollo Books Stenstrup: 1-271.

ХИМИЧЕСКАЯ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Волков В.А.¹, Смирнова В.А.², Миташова Н.И.³, Агеев А.А.⁴

СИНЕРГИЗМ ТОКСИЧНОСТИ СМЕСЕЙ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

¹Доктор химических наук, профессор, профессор кафедры физической и коллоидной химии Московского государственного университета дизайна и технологии;

²Аспирант кафедры физической и коллоидной химии Московского государственного университета дизайна и технологии.

³Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры промышленной экологии Московского машиностроительного университета (МАМИ);

⁴Доктор технических наук, профессор, профессор кафедры прикладной математики Российского нового университета, г. Москва

SYNERGISM OF THE ECOTOXICOLOGY MIX OF SURFOCTANTS,

*Prof., Dr.Sc. Viktor A. Volkov, Postgraduate student
Valentina A. Smirnova, Moscow State University of technology
and design*

*Ph.D. Nina I. Mitashova, Moscow State University of
Mechanical Engineering (MAMI)*

*Prof., Dr.Eng. Andrey. A. Ageev, Russian new University,
Moscow*

АННОТАЦИЯ

В статье приведены результаты исследования токсичности некоторых ПАВ и их смесей по тесту на проращивание зерен пшеницы (биохимический тест на токсичность). Найденные данные по токсичности ПАВ сопоставляются с результатами определения коллоидно-химических свойств их растворов. Установлен эффект синергизма токсичности смесей ПАВ. Предлагается аппаратное определение ПДК по коллоидно-химическим свойствам растворов ПАВ. Проведено определение токсичности исходных и очищенных сточных вод прачечной и предприятий аквачистки.

Ключевые слова. Поверхностно-активные вещества (ПАВ), поверхностное натяжение растворов, токсичность, сточная вода, экологическая безопасность, предельно-допустимая концентрация (ПДК).

ABSTRACT

The article presents the results of public service enterprises wastewater biotesting, which contain surfactants and model solutions in comparison with the colloidal-chemical properties. It is established that the maximum allowable concentration of surface active agents coincides with the concentration of saturation of the adsorption layers, which is determined by the isotherm of surface tension. This allows you to replace the tedious and less accurate biotesting measurement to the surface tension of surface active agents solutions to normalize indicators of wastewater.

Keywords: biotesting, toxicological safety, surface tension, surfactants, waste water

Введение. При стирке белья на ткани всегда остается некоторое количество синтетических моющих средств, в основном неионогенных. Во время стадии полоскания белья практически все анионактивные вещества переходят из волокон в воду, но только примерно третья часть неионогенных [1]. Особенно это касается химической чистки, поскольку адсорбция ПАВ на волокнах из неводной среды оказывается неравновесной и необратимой [2], в связи с тем, что ткани представляют собой капиллярно-пористую структуру [3], в порах которой могут концентрироваться молекулы ПАВ, причем НПВ в большем количестве, чем анионактивные [4,5]. При эксплуатации текстильных изделий это чревато выделением молекул ПАВ из волокон на кожу человека в результате десорбции и миграции по капиллярам [6] на поверхность волокон ткани. Поэтому, организм человека, контактируя с постельным бельем или другими текстильными изделиями, получает компоненты моющих средств.

Постановка задачи. В этой связи нами методом биотестирования было проведено токсикологическое исследование модельных растворов различных ПАВ, с целью определения их возможного негативного воздействия на окружающую среду.

Исследованные вещества. Додecilсульфат натрия (DDSDNa) квалификации коллоидно-химически чистый, производства ВНИИПАВ (Россия, Шебекино). Анионактивное фторсодержащее вещество Неофлон-301 (натриевая соль перфторалкилсульфохлорида) синтезировано и очищено в НИИОХТ (Россия, Москва). Технические образцы ПАВ: лаурилсульфат натрия неонол 9-12, применяющиеся для изготовления моющих композиций [7]

Методики эксперимента. Влияние концентрации растворов ПАВ на проращивание зерен пшеницы определяли по методике МР 2.1.7.2297-07 [8]. Поверхностное натяжение растворов определяли методом уравнивания платиновой пластинки по методике [9].

Результаты и обсуждение. Как установил В.В.Бочаров [10], ПДК ПАВ в растворах можно инструментально определить по величине концентрации, при которой происходит насыщение адсорбционного слоя на поверхности водного раствора. При этой концентрации максимально заполняется адсорбционный слой на поверхности мембран клеток живых организмов и начинается формирование микелл в растворе.

В работах В.М.Саенко [11] описано влияние концентрации растворов ПАВ на проницаемость мембран. Исследовалось влияние концентрации растворов ПАВ на селективность мембран (ϕ) и их производительность (проницаемость) (G). Селективность мембран рассчитывается как

$$\phi = (1 - C_n / C_p) \cdot 100, \% \quad (1)$$

где ϕ - селективность мембраны, C_p, C_n - концентрация ПАВ в растворе и пермеате.

Было установлено, что при увеличении концентрации раствора ПАВ (любого типа) первоначально селективность мембраны снижается, т.е. растет концентрация в пермеате. Но по мере формирования адсорбционного слоя ПАВ на поверхности пор в мембране коэффициент селективности начинает расти, что связано с завершением структуры адсорбционного слоя, который способен приводить к гидрофобизации поверхности, уменьшать размер пор и, следовательно, подавлять диффузию как ПАВ так и

других веществ через поры мембраны из раствора в пермеат. Установлено [11], что характер зависимости производительности мембраны идентичен таковой для поверхностного натяжения растворов, что позволяет заключить, что производительность мембраны зависит от адсорбции ПАВ в порах. Селективность мембраны имеет ярко выраженный минимум на зависимости от концентрации, примерно соответствующей ККМ исследованных ПАВ. Такие результаты позволили сделать предположение, что ПАВ, изменяя проницаемость мембран, в результате гидрофобизации поверхности (особенно в присутствии катионоактивных веществ и НПАВ в слабокислой среде), образования или изменения структуры двойного электрического слоя и уменьшения размера пор в мембранах клеток живых организмов, способны оказывать негативное влияние на их развитие. Впоследствии такое предположение было подтверждено результатами исследований С.А.Остроумова [12].

Поскольку именно процесс адсорбции является причиной неспецифического токсического действия ПАВ, то можно подобрать такие количественные критерии аппаратурного определения поверхностных свойств ПАВ, которые значительно легче позволят находить концентрационные параметры токсич

ности ПАВ [10]. В качестве такового можно использовать коэффициент распределения ПАВ между адсорбционным слоем и равновесным раствором [4]

$$K = \Gamma_i / c_i, \quad (2)$$

где Γ_i адсорбция, c_i - равновесная концентрация раствора ПАВ.

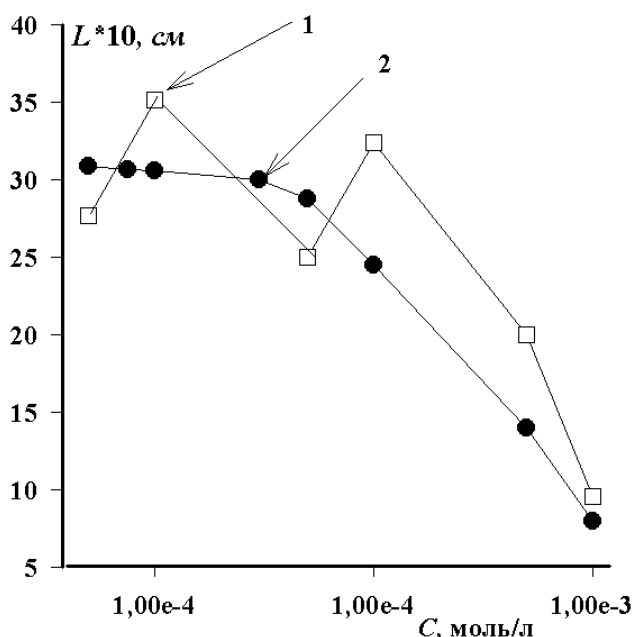


Рис.1. Влияние концентрации растворов додецилсульфата натрия на длину проростков пшеницы (на 7 день-корешки). 1-экспериментальные данные, 2-данные после обработки полиномом 5-го порядка

На рис.1 приведена зависимость длины проростков пшеницы на 7 день проращивания от концентрации растворов додецилсульфата натрия. Видно, что экспериментальные данные имеют сильный разброс найденных значений, а после обработки их полиномом 5-ой степени получается достаточно строгая зависимость. Каждая экспериментальная точка является средним значением из 25 определений.

По характеру зависимости от концентрации растворов влияние на проращивание пшеницы аналогично таковой зависимости для коэффициента распределения ПАВ между раствором и адсорбционным слоем, так и для величины поверхностного натяжения, что можно видеть из данных, приведенных на рис. 2,3.

На рис. 2 показан пример зависимости коэффициента распределения и длины проростков пшеницы от равновесной концентрации раствора ПАВ. Можно видеть, что эти зависимости практически идентичны по форме. При достижении концентрации растворов c_a начинается резкое уменьшение длины проростков в результате токсического действия молекул ПАВ. Это та концентрация, при которой на изотерме поверхностного натяжения в полулогарифмических координатах зависимость (кривая) выходит на линейный участок, см.рис.3 [4] и соответствует завершению формирования адсорбционного слоя. Каждая экспериментальная точка (длины корешков) – это среднее значение из 25 измерений. Поскольку разброс значений составляет 10-15 %, то

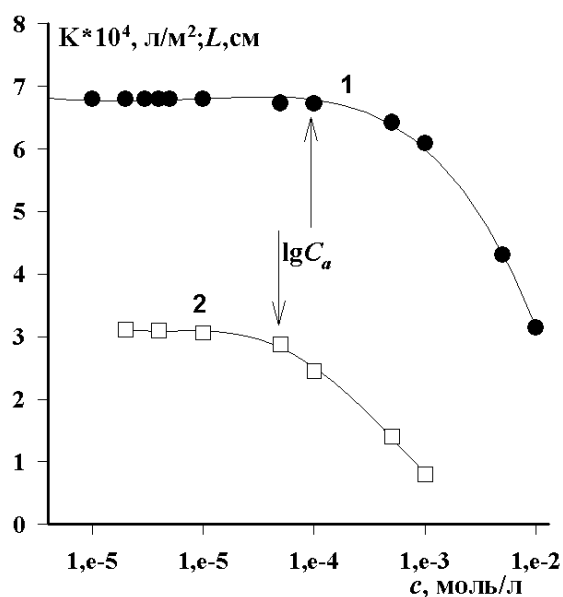


Рис.2. Зависимость коэффициента распределения (1) и длины проростков (2) от концентрации растворов DDSNa

экспериментальные зависимости обрабатывались статистически на ПЭВМ. Такие же результаты были получены нами для фторсодержащего ПАВ Неофлон-301, для которого C_a составляет 10^{-4} моль/л, в то время как LD_{50} , найденное по пероральному введению препарата белым мышам составляет ~ 19 г/кг [13], что позволяет отнести это вещество к классу безопасных для теплокровных, но оно, как мы видим, обладает токсичностью для растений.

Токсическое действие сточных вод, содержащих поверхностно-активные вещества, проявляется при существенно меньших концентрациях [8], нежели у растворов индивидуальных ПАВ. Это связано с проявлением синергизма, поскольку моющие средства содержат смеси аниоактивных и неионогенных ПАВ, которые в моющем процессе переходят в сточные воды [1].

Адсорбция на различных поверхностях раздела фаз является синергетическим свойством [7] от состава смеси, как и свойства самой поверхности после адсорбции ПАВ, например, электрокинетический потенциал [6]. Поэтому мы посчитали, что состав смесей ПАВ способен оказывать синергетическое влияние на их токсичность и провели исследования влияния состава смесей ПАВ на их токсичность. Некоторые из полученных результатов приведены на рис.4. Можно видеть, что в смесях ПАВ не аддитивны, но их токсическое действие синергетично. Эти результаты отлично коррелируют со значениями минимального поверхностного натяжения.

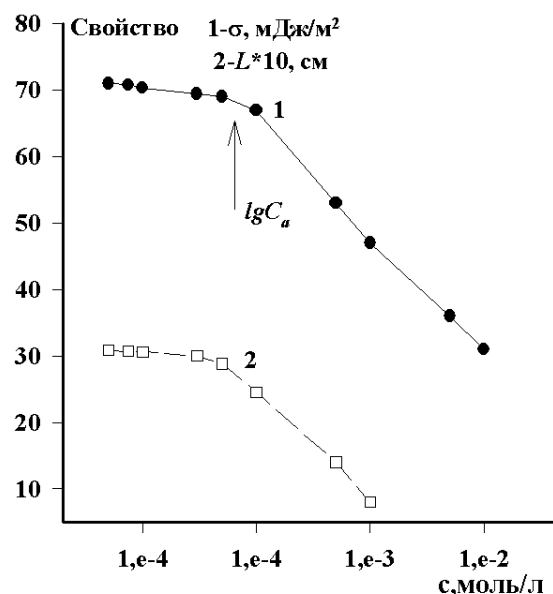


Рис 3. Влияние концентрации растворов DDSNa на поверхностное натяжение (1) и длину проростков пшеницы(2)

Учитывая тот факт, что сточные воды, содержащие ПАВ, также обладают токсическим действием, причем это действие проявляется при меньших концентрациях, чем в модельных растворах ПАВ, нами было проведено исследование по выделению моющих средств из стоков прачечных и пред-

приятий аквастилки с целью их повторного использования в моющем процессе после фильтрации и дезинфекции [14]. Выделение ПАВ проводилось методом пенной флотации, а глубокая доочистка сточных вод осуществлялась методами коагуляционной адсорбции на гидроксидах железа и алюминия и динамической адсорбции на активированных углях.

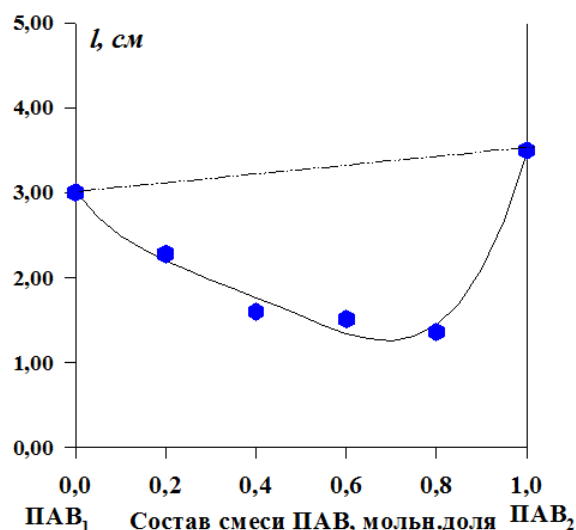


Рис.4. Влияние состава смесей ПАВ на длину корешков проростков пшеницы (на 7 день). ПАВ1- додецилсульфат натрия, ПАВ2- Неофлон-301. Концентрация смеси 10⁻⁴ моль/л

Выводы.

1. Проведено исследование токсического действия ПАВ на растения и установлено, что это действие связано с адсорбцией ПАВ.
2. Предложен инструментальный метод определения ПДК по коллоидным свойствам растворов ПАВ.
3. Проведено исследование влияния состава смесей ПАВ на токсическое действие и установлен эффект синергизма.
4. С целью уменьшения экологической нагрузки на окружающую среду было проведено исследование по выделению моющих средств из сточной воды прачечных и аквастилки и их рециклизации.

Список литературы.

1. Волков В.А. Адсорбция и моющее действие поверхностно-активных веществ в процессе стирки. [Текст]/ Волков В.А., Агеев А.А., Миташова Н.И., Кибалов М.К. Вісник Хмельницького національного університету (Вісник ХНУ). - 2011. - № 4. - С. 147-154.
2. Волков В.А. Мицеллообразование и адсорбция дифильных веществ в неполярных средах. [Текст]/ Успехи коллоидной химии. -Л.: Химия, 1991. -С. 185-199.
3. Волков В.А. Определение размера капилляров и угла смачивания волокон по кинетике подъ-

ема жидкости по вертикальным образцам тканей и нетканых материалов. / Волков В.А., Булушев Б.В., Агеев А.А. Коллоидный журнал. 2003. Т. 65.

1. № 4. С. 569-572.
4. Ageev A.A. Thermodynamics of adsorption from solution onto cloth fibers and determination of the chemical affinity of dyes to fibers. [Text] / Ageev A.A., Volkov V.A. Fibre Chemistry. 2012. Bd. 44. № 3. P. 175-179.
5. Жиронкин А.Н. Адсорбция фторсодержащих поверхностно-активных веществ на поверхности полиамидных волокон.[Текст]/ Жиронкин А.Н., Волков В. А., Гордеев А.С. Коллоидный журнал. 1997.Т.59. № 4.С.478-481.
6. Ageev A.A. Kinetic laws of detergent action.[Text]/ Ageev A.A., Emel'yanov P.R., Volkov V.A. Fibre Chemistry. 2013. Bd. 44. № 5. P. 293-298.
7. Волков В.А. Поверхностно-активные вещества в моющих средствах и усилителях химической чистки./Виктор Анатольевич Волков. – М.: Легпромбытиздат, 1985, 200 с.
8. Волков В.А. Чистый клининг для природы. [Текст]/Волков В.А., Миташова Н.И. Вода magazine, 2011, № 7, с. 44-46.
9. Волков В.А.Лабораторные работы по коллоидной химии.[Учебник]/ Волков В.А., Данюшин Г.В., Семенова Т.В. –М.: МГТУ им.А.Н. Косыгина, 2000, 221 с.

10. Бочаров В.В. Оценка и прогноз эколого-гигиенических свойств ПАВ с позиций физической и коллоидной химии. [Текст]/ В сборнике науч. труд. «Экологические проблемы производства и потребления поверхностно-активных веществ». Под ред. В.А.Волкова. –М.; МГТУ, 2007. С.6-10.
11. Саенко В.М., Очистка сточных вод от ПАВ мембранным методом. [Текст]/ Саенко В.М., Велешко Н.А. В сб. науч. трудов. Проблемы химической чистки и крашения одежды. –М.: ЦНИИбыт. 1983, С. 130-137.
12. Остроумов С. А.. Биологические эффекты при воздействии поверхностно-активных веществ на организмы./ Сергей Андреевич Остроумов.- М.: МАКС Пресс, 2001. — 334 с.
13. Хохлов С. С. Трибопрепараты на основе 1,1-дигидроперфтор-сульфокис-лоты. / Хохлов С. С., Дунаев А. В., Герасимов К. Н., Елеев А. Ф. В сб. тез. докл. 9-ой Всероссийской конференции «Химия фтора». -М.: ИНЭОС. 2012. Р-70.
14. Волков В.А. Определение показателей качества сточных вод, содержащих поверхностно-активные вещества/ Волков В.А., Миташова Н.И., Агеев А.А. Известия МГТУ МАМИ, №1(19). том 3. С.68-77.

НЕЙРОБИОЛОГИЯ

Горелкин В.С.¹, Северина И.Ю.², Исавнина И.Л.³

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ НИСХОДЯЩИХ ПУТЕЙ У НАСЕКОМЫХ, ОБЛАДАЮЩИХ РАЗЛИЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

¹кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург;

²научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург;

³младший научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург

PECULIARITIES OF STRUCTURAL-FUNCTIONAL ORGANIZATION OF DESCENDING TRACTS AT INSECT DIFFERING BY LEVEL OF LOCOMOTOR ACTIVITY

Gorelkin Valerii, Candidate of Science, scientific researcher of Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

Severina Irina, scientific researcher of Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

Isavnina Inga, scientific researcher of Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

АННОТАЦИЯ

Работа посвящена изучению и сопоставлению особенностей структурно-функциональной организации нисходящих путей, по которым сигналы распространяются из головного мозга к сегментарным локомоторным центрам, контролирующим те или иные двигательные акты у насекомых, отличающихся уровнем активности их локомоторных систем.

ABSTRACT

The study is aimed at evaluation and comparison of the features of morpho-functional structure of downstream neural pathways along which signals are spread from the brain to segmental centers of locomotion regulating variety of motor acts in the insects differentiating by the level of activity of locomotion systems (dragonfly, cockroach).

Ключевые слова: насекомые, нисходящие нейроны, ганглии

Keywords: insect, descending neurons ganglion

Одной из наиболее интересных и важных проблем современной нейрофизиологии является проблема, связанная с изучением механизмов нервного контроля двигательного поведения животных. Особый интерес в этом отношении представляют насекомые – высшие представители иной по отношению к позвоночным филогенетической линии, но обладающие, тем не менее, очень сложным двигательным поведением, по многим параметрам сопоставимым с

таким высших позвоночных, включая человека. Важно отметить при этом, что, несмотря на то, что количество нейронов, включенных в контроль работы двигательной системы у насекомых на несколько порядков меньше, чем у позвоночных, основные закономерности организации и функционирования систем управления двигательным поведением у этих животных во многом очень сходны [1-6, 8-9]. Это обстоятельство позволяет использовать, в ряде случаев, полученные на этих животных результаты, для анализа более сложных отношений, существующих в аналогичных системах управления высших позвоночных, а также для понимания основных механизмов двигательной координации, которые обеспечиваются нисходящими влияниями из высших отделов ЦНС. Еще в 1932 г. Э. Эдриан в своей монографии «Механизмы нервной деятельности» писал, что главная функция ЦНС заключается в посылке сигналов к мышцам, которые осуществляют эффективное движение тела как единого целого [7].

Изучить и сопоставить особенности структурно-функциональной организации нисходящих путей, по которым такие сигналы распространяются из головного мозга к сегментарным локомоторным центрам, контролирующим те или иные двигательные акты у насекомых, отличающихся уровнем активности их локомоторных систем, и составило основную задачу настоящей работы.

Исследования проводились на разнокрылых стрекозах *Aeschna grandis* – воздушных хищниках, виртуозно ловящих насекомых на лету с помощью ног и тараканах *Periplaneta americana* – не способных к такому полету, но использующих свои ноги исключительно для локомоции: быстрой и высокоманевренной ходьбы. Для экспериментов личинок стрекоз отлавливали в водоемах Ленинградской области и содержали в специально оборудованных аквариумах

до окрыления. В опыты отбирались взрослые стрекозы на вторые сутки после окрыления. Тараканов для исследований брали из инсектария Института.

Для морфологических исследований применялась методика окраски нервных структур с помощью хлористого никеля. Перед операцией насекомых анестезировали (обездвиживали) при температуре 4° С. Затем через отверстие в кутикуле перерезали коннективу между подглоточным и проторакальным ганглиями. Концы коннектив помещали в пластиковую чашечку с 2%-м раствором хлористого никеля на 40-48 часов при температуре 4°С. Окрашивание проявлялось с помощью рубеоновой кислоты. Препараты фиксировались, проводились по спиртам восходящей крепости, просветлялись и заливались в даммарксилол. Для изучения полученных препаратов применялась световая микроскопия. В ряде случаев для анализа и сопоставления результатов исследований использовались тотальные препараты нервной системы саранчи, изготовленные ранее с помощью метода прижизненной окраски данных структур метиленовым синим.

В работе проведен сравнительный анализ особенностей структурно-функциональной организации проводящих путей, связывающих головной мозг (над- и подглоточный ганглии) с ганглиями грудного отдела исследуемых насекомых. В результате сопоставления тотальных препаратов нервной системы этих насекомых, выполненных в разных методиках (окраска хлористым никелем и прижизненной окраской метиленовым синим), удалось воссоздать картину распределения клеточных тел нисходящих

нейронов и их отростков в различных отделах головного мозга. Выявлены интернейроны, тела которых находятся в надглоточном ганглии, а их отростки идут (через тритоцеребральную комиссуру) в ипсилатеральном направлении к торакальным ганглиям. Показано, что распределение клеточных тел этих нейронов между различными отделами надглоточного ганглия у этих насекомых неодинаково. Так, у стрекоз наибольшее количество нисходящих интернейронов находится в протоцеребруме надглоточного ганглия, в то время как у тараканов – в трито- и дейтоцеребруме. Такое расположение нисходящих интернейронов, по-видимому, связано с особой ролью отдельных надсегментарных структур в контроле двигательного поведения этих насекомых. Так, нахождение значительного количества нисходящих интернейронов в протоцеребруме у стрекоз, на наш взгляд, является особенно важным, поскольку именно здесь находятся оптические доли, а также центральный комплекс и грибовидные тела – важнейшие интегративные центры, контролирующие все сложные формы двигательного поведения. Нахождение же у тараканов значительно большего, чем у стрекоз количества тел нисходящих интернейронов в области дейтоцеребрума – обонятельного центра, предполагает более важную роль обоняния в регуляции двигательного поведения у этих животных. Поведенческие опыты и данные литературы подтверждают это предположение. Выявлены различия в структурно-функциональной организации нисходящих путей у исследуемых насекомых (рис. 1).

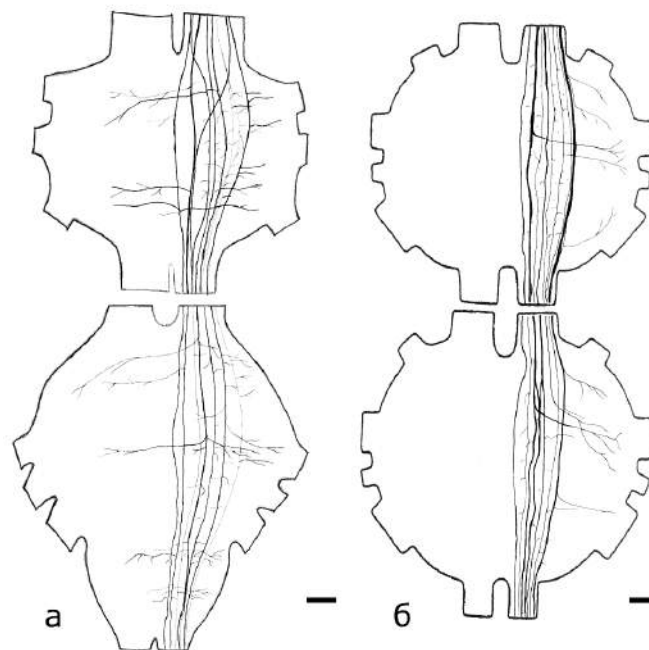


Рисунок 1. Характер ветвления нисходящих нейронов в мезо- и мета- торакальных ганглиях стрекозы (а) и таракана (б). Масштаб - 100 мкм.

Как видно из рисунка у таракана все нисходящие волокна, проходя через грудные ганглии отдают свои коллатерали исключительно в ипсилатеральном направлении в область моторного нейропиля конечностей, в то время как у стрекоз большое количество нисходящих волокон отдают коллатерали во многие области нейропиля мезо- и метаторакальных ганглиев как в ипси-, так и в контрлатеральном направлении. Показано, что их много в моторном нейропиле крыльев.

Особенно хочется выделить у стрекоз группу, отсутствующую у тараканов и состоящую из нескольких типов нисходящих интернейронов, аксоны которых приходят в моторный нейропиле конечностей. Установлено, что аксоны одного из таких типов интернейронов оканчиваются в каждом из трех ганглиев, в непосредственной близости от моторного нейропиля конечностей, тогда как аксоны других – в нейропиле I-II, I-III, II-III ганглиев. Выявлены также тесные дендритические связи между мотонейронами функционально различных двигательных ядер (крыловых и ножных), отсутствующие у тараканов. Полагаем, что подобные иннервационные отношения дают возможность стрекозам осуществлять очень сложные и точные движения ног, связаны с движениями насекомых в воздухе, тонко взаимодействуя при этом с работой крыловой системы.

Считаем, что знание этих механизмов позволяет понять не только основные принципы интегративно-координационной деятельности высших отделов ЦНС насекомых, но и будет способствовать лучшему пониманию основных принципов работы

функциональных систем, вовлеченных в реализацию сложных форм двигательного поведения не только беспозвоночных животных – насекомых, но и высших позвоночных, включая человека.

Список литературы

1. Свидерский В.Л. 1969 Нервный контроль быстрых ритмических движений мышц насекомых. Тр. Всесоюз. энтомол. об-ва. 53: 91-131.
2. Свидерский В.Л. 1973. Нейрофизиология полета насекомых.
3. Свидерский В.Л. 1980. Основы нейрофизиологии насекомых.
4. Свидерский В.Л. 1988. Локомоция насекомых. Нейрофизиологические аспекты.
5. Свидерский В.Л. 1999. Генерация двигательных ритмов. Журн. эвол. биохим. и физиол. 35: 358-367.
6. Свидерский В.Л., Плотникова С.И. Насекомые и позвоночные, аналогичные структуры в высших интегративных центрах головного мозга. 2002. Журн. эвол. биохим. и физиол. 38: 492-501.
7. Эдриан Э. 1932. Механизмы нервной деятельности.
8. Duysens J., Clarac F., Cruse H., 2000. Load regulating mechanisms in gait and posture, comparative aspects. *Physiol. Rev.* 80: 83-133.
9. Pearson K.G. 1993. Common principles of motor control in vertebrates and invertebrates. *Annu. Rev. Neurosci.* 16: 265-297.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

Брагин Е.Ю., Донова М.В.

ВЫЯВЛЕНИЕ СИТОСТЕРИН-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ У ШТАММА *MYCOBACTERIUM SP. VKM AC-1817D*

¹аспирант, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, г. Пущино;

²доктор биологических наук, заведующая лабораторией, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, г. Пущино

IDENTIFICATION of SITOSTEROL-INDUCED GENES in Mycobacterium sp. VKM Ac-1817D

Bragin Eugeny, Post-graduate, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino

Donova Marina, DSci (Biology), Head of Laboratory, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino

АННОТАЦИЯ

Штамм *Mycobacterium sp. VKM Ac-1817D* конвертирует фитостерин в 9 α -гидрокси-андрост-4-ен-3,17-дион (9-ОН-АД) – ключевой интермедиат синтеза фармацевтических стероидов широкого спектра терапевтического действия. С помощью полнотранскриптомного секвенирования идентифицированы ситостерин-индуцируемые гены у данного штамма.

Выявлено 142 гена, изменивших уровень экспрессии более, чем втрое, при росте штамма на фитостерине. Среди генов, увеличивших экспрессию, установлены гены, кодирующие ферменты окисления боковой цепи стероидов, а также гены, кодирующие ключевые этапы деградации стероидного ядра.

ANNOTATION

Strain of *Mycobacterium sp. VKM Ac-1817D* is capable of converting phytosterol into 9 α -hydroxy-androst-4-ene-3,17-dione (9-OH-AD) which is a key intermediate in a synthesis of high-value pharmaceutical steroids with wide spectrum of the therapeutic action. We performed an identification of sitosterol-induced genes by full transcriptome sequencing.

142 Genes revealed altering expression more than threefold at the strain growth on phytosterol. Among the genes which increased expression, the genes encoding enzymes related to the oxidation of sterol side chain, as well as the genes encoding key steps of steroid core degradation were identified.

Ключевые слова: стероид; микобактерии; транскриптом

Keywords: steroid; mycobacteria; transcriptome

Многие природные штаммы микроорганизмов, представленные в большинстве случаев актиномицетами: родококками и микобактериями, способны окислять молекулы природных стероидов, используя их в качестве источников энергии и угле-

рода. Микробиологическое окисление стероидов – является сложным многоступенчатым полиферментным процессом и его условно можно разделить на две основные составляющие – окисление алифатической боковой цепи при C-17 и деструкцию стероидного ядра.

Штамм *Mycobacterium sp. Ac-1817D* при росте на среде, содержащей широко распространенный в природе фитостерин - β -ситостерин, способен накапливать 9 α -гидрокси-андрост-4-ен-3,17-дион (9-ОН-АД), который может быть использован в качестве ключевого интермедиата для получения биологически активных фармацевтических стероидов [1]. В связи с этим изучение генов катаболизма стероидов данным штаммом представляет значительный интерес, как с научной, так и с практической точек зрения. Ранее нами осуществлено секвенирование генома данного штамма, [2], что облегчает исследование молекулярно-генетических механизмов катаболизма стероидов.

Целью настоящего исследования являлась идентификация ситостерин-индуцируемых генов *Mycobacterium sp. VKM Ac-1817D* на основе полнотранскриптомного секвенирования и сопоставительного анализа транскриптомов штамма, выращенного в присутствии и в отсутствие β -ситостерина.

Методы

Штамм *Mycobacterium sp. VKM Ac-1817D* был предоставлен Всероссийской Коллекцией Микроорганизмов (VKM ИБФМ РАН). Штамм культивировали на среде следующего состава: (NH₄)₂SO₄ – 3 г/л; MgSO₄, – 0.2 г/л; FeSO₄ – 0.01 г/л; ZnSO₄ – 0.002 г/л, глицерин – 5 г/л, калий фосфатный буфер pH 7,2 – 50 мМ в присутствии ситостерина или без добавления стероидов. Ситостерин вносили в ростовую среду до концентрации 5 г/л. После этого среду стерилизовали и подвергали воздействию ультразвука для растворения ситостерина. После внесения бактериальной культуры в ростовую среду, в течение 24-30 часов проводили культивирование в аэрируемых усло-

виях в колбах Эрленмейера объемом 750 мл в термостатируемом орбитальном шейкере при температуре 30°C и перемешивании 200 об/мин.

Выделение и обогащение мРНК осуществляли с помощью наборов RNeasy Mini Kit фирмы Qiagen (Германия) и MICROB Express фирмы Ambion (США) в соответствии с инструкциями производителей.

Секвенирование транскриптомов осуществляли на высокопроизводительном секвенаторе HiSeq 2000 фирмы Illumina (США). Подготовку проб и секвенирование образцов мРНК осуществляли с помощью наборов реактивов от производителя.

Результаты

При анализе транскриптомов штамма *Mycobacterium* sp. ВКМ Ас-1817Д нами выявлены 142 гена, уровень экспрессии которых при росте на среде, содержащей β -ситостерин, изменялся более чем в 3 раза по сравнению с культурой, выращенной на среде без ситостерина. Из этих 142 генов 113 увеличивали свою активность, а 29 - уменьшали. Среди генов, увеличивших свою экспрессию, установлено пять генов ацил-КоА-синтетазы, экспрессия которых возросла в 27, 15, 13, 7 и 5 раз, соответственно, девять генов ацил-коА-дегидрогеназы (увеличение экспрессии в 44, 27, 17, 13, 11, 9, 9, 8 и 6 раз), три гена еноил-КоА-гидратазы (увеличение экспрессии в 20, 20 и 3 раза) и шесть генов ацетил-КоА-ацетилтрансферазы (увеличение экспрессии в 32, 27, 24, 23, 7 и 6 раз). Механизм окисления боковой цепи стерина схож с таковым для β -окисления жирных кислот. Поэтому можно предположить, что перечисленные выше гены участвуют в окислении боковой цепи β -ситостерина.

Биотрансформация β -ситостерина (C₂₉-структура) в 9-ОН-АД (C₁₉-структура), помимо окисления гидроксильной группы до кетогруппы при углеродном атоме С3 и окисления боковой цепи стерина с формированием C₁₉-стероида, включает 9 α -гидроксилирование углерода С9 стероидного ядра.

3-Кетостероид-9 α -гидроксилаза – фермент, состоящий из двух субъединиц – оксигеназной и редуктазной. Оксигеназная субъединица кодируется геном *kshA*, редуктазная - *kshB*. Нами обнаружено 2 гена *kshA*, экспрессия которых увеличивалась при росте на β -ситостерине. Экспрессия одного из этих генов увеличилась в 32 раза, второго – в 76 раз. Также среди ситостерин-индуцируемых генов был выявлен один ген *kshB*, экспрессия которого увеличилась в 9 раз.

Окисление 3-гидроксигруппы до кетогруппы происходит с помощью холестерол-оксидазы. Также такой активностью может обладать 3,17-гидроксистероид-дегидрогеназа. Значимого увеличения экспрессии генов холестерол-оксидазы нами обнаружено не было, однако был выявлен один ген 3,17-

гидроксистероид-дегидрогеназы, экспрессия которого увеличилась в 19 раз.

Несмотря на то, что штамм 1817Д не обладает ярко выраженной 3-кетостероид- Δ 1-дегидрогеназной активностью, был выявлен один ген 3-кетостероид-дегидрогеназы (*kstD*), экспрессия которого увеличилась в 17 раз. Помимо *kstD*, экспрессия увеличивалась, как минимум, у шести генов деструкции стероидного ядра.

Кроме того, нами было выявлено увеличение экспрессии регуляторных генов – *kstR* и *kstR2*. Известно, что эти гены принимают активное участие в регуляции экспрессии генов стероидного катаболизма. Увеличение их экспрессии на стероидном субстрате хорошо соотносится с литературными данными: в культуре другого вида микобактерий - *M. smegmatis* в присутствии холестерина данные гены также увеличивают свою экспрессию [3].

Заключение

На среде, содержащей ситостерин, у штамма *Mycobacterium* sp. ВКМ Ас-1817Д изменяется экспрессия 142 генов. Среди этих генов присутствуют гены, непосредственно участвующие в катаболизме стерина, регуляторные гены, а также гены, участие которых в катаболизме стерина на данный момент недостаточно изучено. Полученные данные помогают лучше понимать молекулярно-генетические механизмы катаболизма стероидов и могут быть использованы при проведении генно-инженерных работ по созданию новых штаммов-продуцентов ключевых интермедиатов синтеза терапевтических стероидов для фармацевтической промышленности.

Список литературы.

1. Донова М. В., Биоконверсия стероидных соединений актинобактериями. Пушино 2010.
2. Bragin E. Y., Shtratnikova V. Y., Dovbnya D. V., Schelkunov M. I., Pekov Y. A., Malakho S. G., Egorova O. V., Ivashina T. V., Sokolov S. L., Ashapkin V. V., Donova M. V. Comparative analysis of genes encoding key steroid core oxidation enzymes in fast-growing *Mycobacterium* spp. strains. J Steroid Biochem Mol Biol. 2013; 138: 41-53.
3. Uhía I., Galán B., Kendall S. L., Stoker N. G., García J. L. Cholesterol metabolism in *Mycobacterium smegmatis*. Environ Microbiol Rep. 2012 Apr;4(2):168-82.

Благодарности.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-01551-а/14.

Авторы благодарят сотрудников МГУ им. М.В. Ломоносова к.б.н. Штратникову В.В., Щелкунову М.И., и Пекова Ю.А. за помощь в биоинформатической обработке данных, а также н.с. ИБФМ РАН Довбню Д.В. - за помощь в культивировании бактерий.

МИКОЛОГИЯ

Петров А.Е.¹, Петрова М.В.², Михайлова В.А.³

БАЗИДИОМИКОТА ХВОЙНЫХ И СМЕШАННЫХ ЛЕСОВ ИШИМБАЙСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

¹магистрант, Стерлитамакский филиал Башкирского Государственного Университета, г. Стерлитамак

²магистрант, Стерлитамакский филиал Башкирского Государственного Университета, г. Стерлитамак

³кандидат биологических наук, доцент, Стерлитамакский филиал Башкирского Государственного Университета, г. Стерлитамак

BASIDIOMYCOTA CONIFEROUS AND MIXED FORESTS ISHIMBAY DISTRICT REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

Andrey Evgenyevich Petrov, graduate student, Department of biology, Sterlitamak branch of Bashkir state University
Mariya Vladimirovna Petrova, graduate student, Department of biology, Sterlitamak branch of Bashkir state University
Valentina Anatolevna Mikhaylova, candidate of biological sciences, associate professor, Department of biology, Sterlitamak branch of Bashkir state University

АННОТАЦИЯ

Целью нашей работы явилось изучение видового разнообразия грибов-макромицетов хвойных и смешанных лесов Ишимбайского района Республики Башкортостан. Исследование на данной территории проведено нами в 2014 году. В настоящий момент систематический список макромицетов района исследования насчитывает 104 вида, принадлежащих к двум отделам (*Ascomycota* и *Basidiomycota*), трем классам, 18 порядкам, и 59 родам. При определении и систематизации таксонов за основу была взята система высших грибов, опубликованная Knudsen Н. в книгах «*Nordic Macromycetes*».

В результате исследования нами было обнаружено, что в основном преобладают одновидовые семейства (55% в хвойных лесах и 52% в смешанных лесах). Коэффициент сходства между двумя типами леса по Серенсу-Чекановскому составляет 0,2. Количество видов, собранных нами в смешанных лесах в 1,6 раза больше, чем в хвойном лесу. Для диагностики общего экологического состояния Республики Башкортостан необходимо дальнейшее систематическое изучение видового разнообразия микобиоты.

ABSTRACT

The aim of our work was to study the species diversity of fungi-mushrooms of coniferous and mixed forests Ishimbay district Republic of Bashkortostan. Research in this area conducted in 2014. Currently, a systematic list of macromycetes of the study area consists of 104 species belonging to two departments (*Ascomycota* and *Basidiomycota*), three classes, 18 orders, and 59 genera. When the definition and classification of taxa for was based on the system of higher fungi, published Knudsen H. in books "Nordic Macromycetes".

In the study we found that mainly dominated by monospecific family (55% in coniferous forests and 52% in mixed forests). The coefficient of similarity between the two forest

types on Serena-Chekanovsky is 0.2. The number of species collected by us in mixed forests in 1.6 times more than in the coniferous forest. For diagnostics of the overall ecological status of the Republic of Bashkortostan is a need for further systematic study of species diversity of mycobiota.

Ключевые слова: грибы-макромицеты, базидиомицота, Республика Башкортостан.

Key words: fungi-mushrooms, Basidiomycota, the Republic of Bashkortostan.

Царство грибов огромно. Они растут повсюду, различаясь по величине – от микроскопических дрожжей до крупных плодовых тел шляпочных грибов, – циклами развития, некоторые из них имеют взаимовыгодную связь с живыми растениями, другие паразитируют на них или даже убивают своих хозяев. Значение их нельзя переоценить [1, с. 6].

К сожалению, уровень изученности биоты грибов-макромицетов России и отдельных регионов остаётся невысоким. В особенности это касается лесных районов, к которым относится и территория Ишимбайского района. Необходимо уделять значительное внимание изучению биоразнообразия и систематизации грибов-макромицетов, так как изменения и нарушения в лесных экосистемах отрицательно отражаются на всех группах организмов.

Ишимбайский район находится на правом берегу реки Белой. Восточная часть территории района относится к западным передовым хребтам Башкирского (Южного) Урала с абсолютной высотой до 845 м, увлажненным климатом, покрытым широколиственными и березово-осиновыми лесами. Западная часть района находится на Прибельской увалисто-волнистой равнине с незначительно засушливым климатом и лесостепным ландшафтом. Почвы серые, темно-серые лесные и выщелоченные черноземы. Хотя административный центр Ишимбайского района находится в речной долине, большая часть территории района – горная тайга. Лесом занято 252,6 тыс. га (63.1 % территории района). Преобладают береза, липа, дуб, осина. Небольшие лесные массивы: Ахмеровский, Бурсук и др. [2]

Исследование микобиоты Ишимбайского района нами проведено в 2014 году. Целью данной работы явилось изучение видового биоразнообразия грибов-макромицетов и оценка их встречаемости в хвойных и смешанных лесах.

В настоящий момент систематический список макромицетов района исследования насчитывает 104 вида, принадлежащих к двум отделам – *Ascomycota* и *Basidiomycota*.

Отдел *Ascomycota* включает в себя два класса – *Peizomycetes* и *Leiomycetes*, два порядка – *Pezizales* и *Letiiales*, три семейства, четыре рода и 4 вида.

Отдел *Basidiomycota* включает в себя один класс – *Hymenomycetes*, 16 порядков (*Coriiales*, *Polyporales*, *Russulales* и др.), 29 семейств, 55 родов и 100 видов. Наиболее многочисленным порядком является *Agaricales*, который представлен 11 семействами, 30 родами и 53 видами. Далее следуют порядки *Russulales*, который представлен одним семейством, двумя родами, и 14 видами; порядок *Coriiales*, представленный двумя семействами, тремя родами и четырьмя видами; порядок *Polyporales*, который представлен одним семейством, двумя родами и пятью видами; *Fomitopsidales* представлен одним семейством и двумя видами. Порядок *Lycoperdales* представлен двумя семействами и пятью видами. Восемь порядков *Auriculariales*, *Schizophyllales*, *Phallales*, *Stereales*, *Ganodermatales*, *Gomphales*, *Fistulinales* и *Sclerodermatales* представлены всего одним семейством, одним родом и одним видом.

Исследования проводились на территории хвойных лесов, находящихся в окрестностях села Макарово (N 53°37'976" E 56°38'010") и на территории смешанных лесов, растущих рядом с селами Ахмерово, Петровское (N 53°37'721" E 56°17'345") и Гумерово (N 53°34'039" E 56°34'171"). Кроме этого мы исследовали Барский (N 53°34'360" E 56°20'805") и Козловский смешанные леса (N 53°30'822" E 56°09'306"). При определении и систематизации таксонов за основу была взята система высших грибов, опубликованная Knudsen H. в книгах «Nordic Macromycetes», Vol. 1, Vol. 2. и Vol. 3 [3, 4, 5].

В хвойном лесу нами было собрано 48 видов грибов-макромицетов относящихся к 20 семействам. В основном, это представители семейств *Russulaceae* (6 видов), *Agaricaceae* (4 вида), *Cortinariaceae* (5 видов), *Polyporaceae* (4 вида) и *Tricholomataceae* (10 видов). Три семейства, такие как *Pezizaceae*, *Coprinaceae* и *Pluteaceae* включают в себя по два вида. И достаточно большое количество семейств представлено всего одним видом, – это *Pyronemataceae*, *Auriculariaceae*, *Schizophyllaceae*,

Peniophoraceae, *Clavulinaceae*, *Boletaceae*, *Ramariaceae*, *Hygrophoraceae*, *Strophariaceae*, *Bolbitiaceae* и *Crepidotaceae*.

В смешанных лесах нами было найдено 78 видов грибов, относящихся к 29 семействам. Среди них представители семейств *Boletaceae* (5 видов), *Tricholomataceae* (13 видов), *Cortinariaceae* (7 видов), *Russulaceae* (11 видов) и *Coprinaceae* (4 вида). Одновидовыми являются 15 семейств, – *Pezizaceae*, *Pyronemataceae*, *Leotiaceae*, *Schizophyllaceae*, *Phallaceae*, *Peniophoraceae*, *Polyporaceae*, *Fomitaceae*, *Ganodermataceae*, *Clavulinaceae*, *Crepidotaceae*, *Entolomataceae*, *Fistulinaceae*, *Sclerodermataceae* и *Geastraceae*.

Тот факт, что в лесах данного типа преобладают в основном одновидовые семейства (55% в хвойных лесах и 52% в смешанных лесах), можно сделать вывод о том, что представителями этих семейств являются виды, которые широко распространены повсеместно и что данные экосистемы являются развивающимися.

Общими, которые были обнаружены нами в обоих типах леса, являются 22 вида (21,5%). Коэффициент сходства по Сьеренсу-Чекановскому составляет 0,2. Количество видов, собранных нами в смешанных лесах в 1,6 раза больше, чем в хвойном лесу.

Для диагностики общего экологического состояния Республики Башкортостан необходимо дальнейшее систематическое изучение видового разнообразия микобиоты, проведение биомониторинга и составление наиболее полного таксономического списка. Полученные данные могут послужить для выводов о тенденциях изменения численности видов и разработки мер охраны природы и биологического разнообразия грибов-макромицетов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лессо Т. Грибы: Определитель. – М.: ООО "Изд-во АСТ": ООО "Изд-во Астрель", 2003. – 304 с.: ил.
2. http://ru.wikipedia.org/wiki/Ишимбайский_район
3. Hansen L., Knudsen H. «Nordic Macromycetes» Vol. 1. Ascomycetes. Copenhagen: "Nordsvamp-Copenhagen", – 2000. – 285 с.
4. Hansen L., Knudsen H. «Nordic Macromycetes», Vol. 2.: Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales. – Copenhagen: Nordsvamp-Copenhagen, – 1992. – 474с.
5. Hansen L., Knudsen H. «Nordic Macromycetes», Vol. 3.: Heterobasidioid, Aphyllophoroid and Gasteromycetoid basidiomycetes. – Copenhagen: Nordsvamp-Copenhagen, – 1997. – 445с.

ГИДРОБИОЛОГИЯ

Ольховик А.В.

СОСТАВ И СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЗАРОСЛЯМИ ДОННЫХ МАКРОФИТОВ В ЭСТУАРИЯХ ПРИМОРЬЯ

Аспирант, Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр, г. Владивосток

TAXONOMIC COMPOSITION AND STRUCTURE OF INVERTEBRATES COMMUNITIES THAT ASSOCIATED WITH BEDS OF MACROPHYTES IN THE ESTUARIES OF PRIMORYE

*Ol'khovik Artur, Post-graduate student, Pacific
Research Fisheries Centre, Vladivostok*

АННОТАЦИЯ

В разнотипных эстуариях Приморья исследованы составные части фитоконсорциев: состав и обилие растений-детерминантов и состав и структура сообществ ассоциированных с ними беспозвоночных (консорты). В полигалинном внутреннем эстуарии р. Суходол преобладали амфиподы, гастроподы и изоподы. В мезогалинном эстуарии р. Аввакумовка в составе консортов доминировали амфиподы, гастроподы, изоподы, мизиды и хирономиды. В полигалинном внешнем эстуарии гавани Тихая Пристань – гастроподы и молодь двустворчатых моллюсков. Биомасса консортов увеличивалась по мере роста солености воды в эстуариях.

ABSTRACT

Taxonomic composition and structure of phytoconsortiums (both components: macrophytes-determinants and animals-consorts) were investigated in the different-type estuaries of Primorye. In the polyhaline internal Sukhodol River estuary most abundant consorts were amphipods, gastropods and isopods. In the mesohaline Avvakumovka River estuary dominants were amphipods, gastropods, isopods, mysids and chironomids. In the polyhaline external Tikhaya Pristan' Harbor estuary most abundant consorts were gastropods and bivalves. Biomass of animal-consorts was positive correlated with water salinity in the estuaries.

Ключевые слова: эстуарий; Приморье; фитоконсорция; макрофиты; макрозообентос

Key words: estuary; Primorye; phytoconsortium; macrophytes; macrozoobenthos

В морском побережье, эстуариях, небольших озерах ключевая роль в структурировании пространства водной толщи принадлежит растительности. Заросли водорослей, морских трав и высших полупогруженных растений в этих экосистемах выполняют ряд важнейших функций (в первую очередь, как автотрофы). Поэтому от структуры растительности таких водоемов зависят состав сообществ гидробионтов и обилие животных. Хотя в эстуарных системах России исследования зарослевых сообществ беспозвоночных ведутся довольно активно, например, в эстуарии реки Невы [5], в солоноватых водоемах Приморья такие исследования до последнего времени [3] не выполнялись. В настоящей работе представлены результаты изучения состава и структуры беспозвоночных, ассоциированных с зарослями растений (фитоконсорции) [1] в разнотипных эстуариях двух районов Приморья.

Работы проводились в июне, августе и сентябре 2012 г. в полигалинном внутреннем (преобладающая соленость 20–25 ‰) эстуарии р. Суходол (зал. Петра Великого, южное Приморье), а в июле и сентябре – в мезогалинном (10–18 ‰) внутреннем эстуарии р. Аввакумовка и полигалинном внешнем (22–28 ‰) эстуарии гавани Тихая Пристань (центральное Приморье) (рис. 1). Всего отобрано 59 количественных проб эпифауны в зарослях прикрепленных (глубины 0–1,8 м) и матах плавающих растительных вододлазным дночерпателем с площадью захвата 0,025 м². Параллельно выполняли альгологические съемки с помощью гидробиологической рамки 0,5х0,5 м (для оценки распределения, видового состава и количественных характеристик донной растительности). Дендрограммы строили методом UPGMA (невзвешенного парно-группового среднего), мера различий – Евклидово расстояние [4]. Для выбора приемлемой степени дробности полученных кластеров использован критерий “значимого сходства”, который рассчитывается как верхняя 95 % доверительная граница среднего (по всей совокупности станций) сходства между пробами [2].

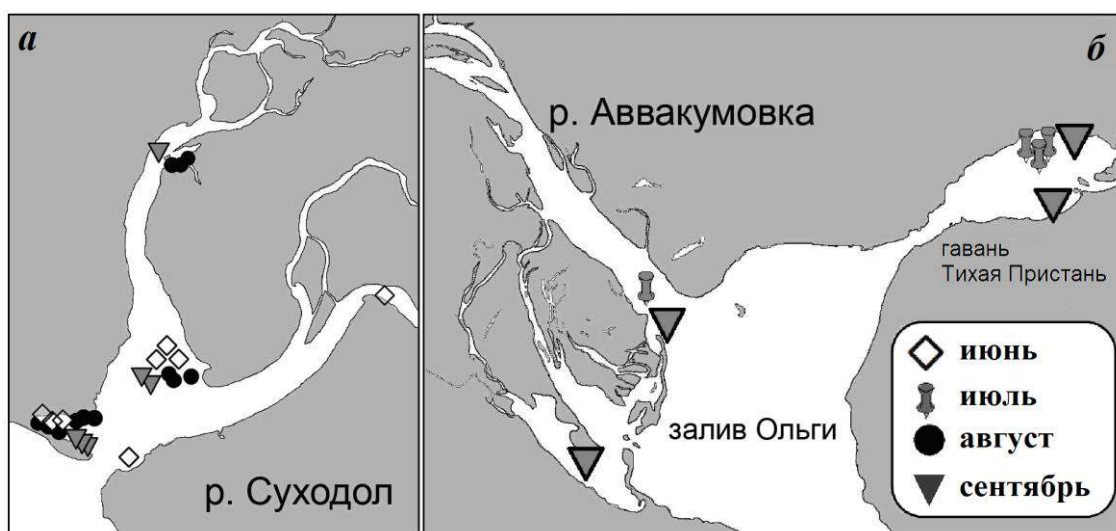


Рисунок 1. Схема расположения станций отбора проб ассоциированных с растениями животных в эстуариях рек Суходол (а) и Аввакумовка (б) и гавани Тихая Пристань

В результате проведенных исследований полигалинного эстуария р. Суходол изучены фитоконсорции, в которых детерминантами выступают как водоросли (ульва *Ulva prolifera*, кладофора *Cladophora glomerata*, спиругира *Spirogyra* sp.), так и травы (руппия *Ruppia maritima*, zostера японская *Zostera japonica*). Доминантами в составе консортов выступали амфиподы, гастроподы (флювиацингула *Fluviacingula* sp. и ассиминей *Assimineea lutea*) и изоподы. Биомасса животных достигала максимума в

августе: в консорциях с доминированием кладофоры она составила в среднем 61,6 г/м², с преобладанием кладофоры и руппии – 38,3 г/м², кладофоры, zostеры и руппии – 80,1 г/м² (табл. 1). Таксономическая структура зарослевых зооценозов менялась, с одной стороны, закономерно в зависимости от биотопа, из которого отбиралась проба, а также от структуры растительности; с другой стороны, станции со сходным составом консортов могли располагаться мозаично (рис. 2, табл. 1).

Таблица 1

Состав (% по массе) и биомасса растений-детерминантов и животных-консорт (г/м²) в составе фитоконсорций в эстуарии р. Суходол

Таксон	Июнь			Август			Сентябрь	
	Станции							
	4-7	1-3	8	1, 3, 5-9, 11, 12	2, 10	4, 13	1-4, 6	5
Детерминанты (растения)								
Ульва	99,8	99,7	–	3,3	6,0	–	–	–
Кладофора	–	–	100,0	96,7	55,4	50,0	63,8	–
Руппия	0,2	0,3	–	–	38,7	13,9	16,6	100,0
Зостера	–	–	–	–	–	36,1	19,6	–
Итого, г/м ²	413,7	637,6	480,0	285,0	601,0	1390	254,5	218,8
Консорты (животные)								
Amphipoda	76,9	6,2	–	33,2	13,8	11,4	20,7	2,9
<i>Fluviacingula</i> sp.	8,4	0,2	–	26,2	2,0	7,9	2,4	97,1
<i>Assimineea lutea</i>	11,9	92,4	–	26,1	78,7	19,9	63,3	–
Isopoda	0,1	1,3	–	12,1	4,6	60,0	11,8	–
Decapoda	–	–	–	–	–	–	1,5	–
Coleoptera larvae	–	–	100,0	–	–	–	–	–
Hydrozoa	2,5	–	–	–	–	–	–	–
Прочие	0,3	–	–	2,2	0,8	0,7	0,4	–
Итого, г/м ²	15,9	19,1	0,02	61,6	38,3	80,1	17,2	0,6

В мезогалинном эстуарии р. Аввакумовка в июле в составе фитоконсорции zostеры японской

преобладали ассиминей *Assimineea lutea* (57,8 %), хириномиды (19,5 %), изоподы (11,0 %) и амфиподы (8,7 %) (табл. 2). Биомасса – 9,5 г/м². В сентябре в

составе консорциев с доминированием нитчатой водоросли спиросиры преобладали амфиподы (79,4–92,9 %) и мизиды (6,8–10,5 %). Биомасса – 6,5–6,9 г/м². Эти цифры сопоставимы с ранее полученными данными для мезогалинного эстуария р. Гладкая

(зал. Посыета) [3] и подтверждают, что в эстуариях этого типа биомасса зоофитоса в составе фитоконсорциев примерно на порядок ниже, чем в полигалинных эстуариях (Суходол).

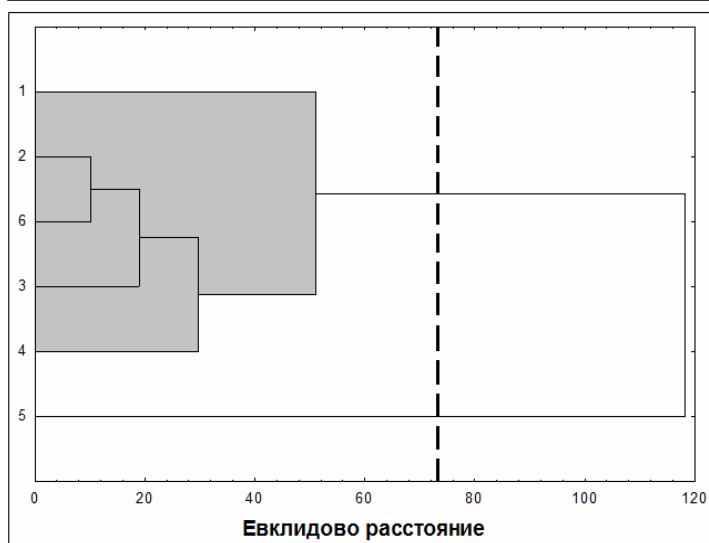
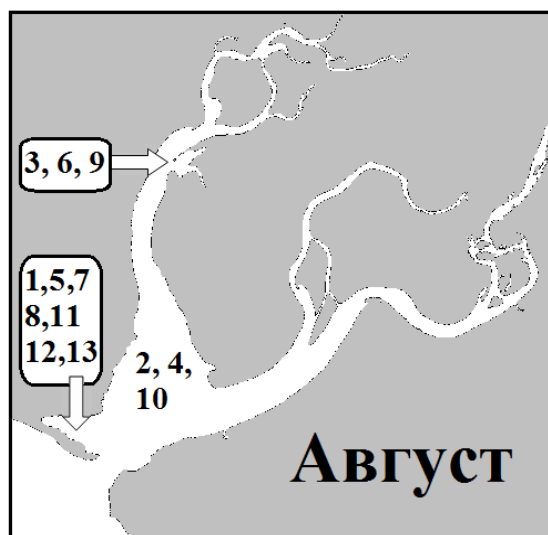
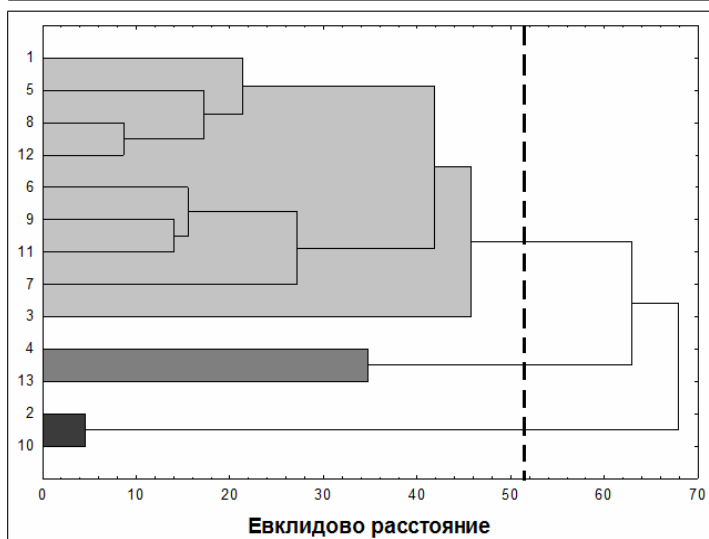
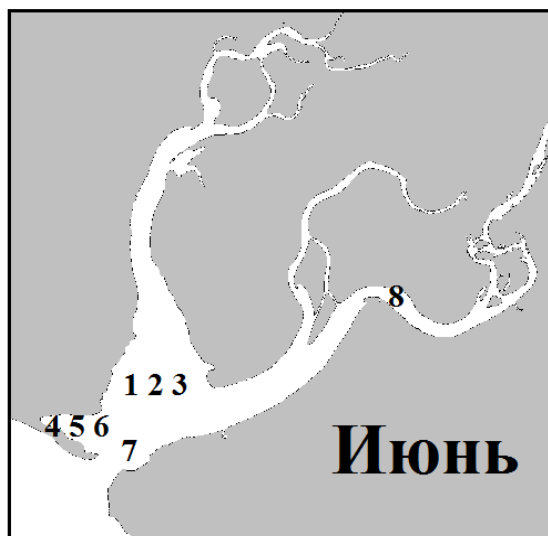
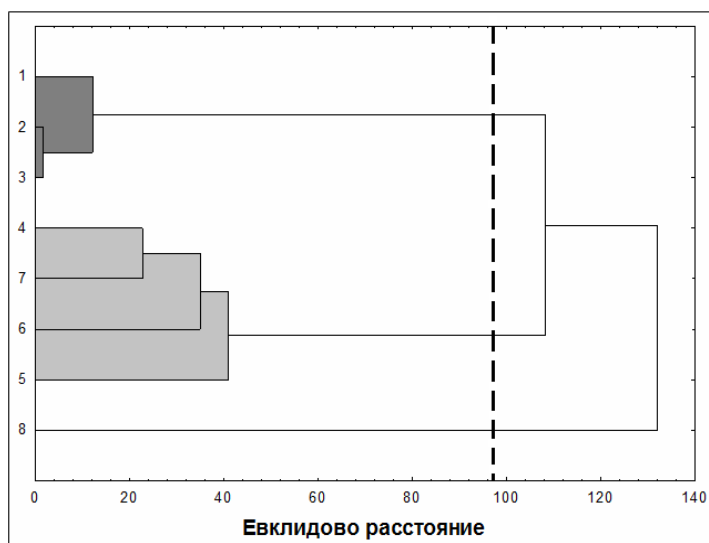


Рисунок 2. Дендрогаммы сходства таксономической структуры (% по массе) консорциев (слева) и схемы расположения станций отбора проб в эстуарии р. Суходол (справа). Пунктир – уровень значимого сходства

Таблица 2

**Состав (%) и биомасса растений-детерминантов и животных-консортов (г/м²)
в составе фитоконсорций в эстуарии р. Аввакумовка**

Таксон	Июль		Сентябрь	
	Станции			
	1	2	3	
Детерминанты (растения)				
<i>R. maritima</i>	0	33,3	0	
<i>Z. japonica</i>	100	0	0	
<i>Spirogyra</i> sp.	0	66,7	100	
Итого, г/м ²	850	937,5	725	
Консорты (животные)				
Amphipoda	8,7	79,4	92,9	
<i>Assiminea lutea</i>	57,8	3,2	0,0	
Isopoda	11,0	0,1	0,3	
Mysidacea	3,0	10,5	6,8	
Chironomidae larvae	19,5	6,8	0,0	
Итого, г/м ²	9,5	6,9	6,5	

Во внешнем полигалинном эстуарии гавани Тихая Пристань зарегистрированы довольно существенные отличия в составе, как детерминантов, так и консортов, по сравнению с р. Аввакумовка (табл. 3). Среди растений, наряду с японской zostерой, зачастую доминировала по биомассе хетоморфа *Chaetomorpha linum*. В составе консортов существен-

ную долю занимала молодь двустворчатых моллюсков семейства Mytilidae. Среди брюхоногих отмечены виды, не встречавшиеся во внутренних эстуариях (*Littorina* sp., *Caecum derjugini*). Биомасса зоофитоса была существенно выше, чем даже во внутренних полигалинных эстуариях (Суходол): в июле в среднем 95,5 г/м², в сентябре – 180,8 г/м².

Таблица 3

**Состав (%) и биомасса растений-детерминантов и животных-консортов (г/м²)
в составе фитоконсорций в эстуарии гавани Тихая Пристань (2012 г.)**

Таксон	Июль				Сентябрь	
	Станции					
	1	2	3	4	1	2
Детерминанты (растения)						
Зостера	87,5	100	–	–	–	–
Хетоморфа	12,5	–	100	100	100	100
Итого, г/м ²	726,8	920	1600	1340	1875	668,8
Консорты (животные)						
Amphipoda	1,3	0,8	1,3	–	0,8	1,7
Gastropoda, в том числе:	53,4	87,5	92,6	55,9	55,8	90,8
<i>Caecum derjugini</i>	–	–	4,4	–	0,4	–
<i>Fluviacingula</i> sp.	47,4	20,7	61,9	10,9	20,1	60,8
<i>Littorina</i> sp.	–	–	26,3	6,2	35,3	30,0
Bivalvia, в том числе:	43,5	11,1	5,2	43,9	43,4	7,2
<i>Musculista senhousia</i>	43,5	11,1	5,2	1,7	41,4	7,2
<i>Mytilus trossulus</i>	–	–	–	42,2	2,0	–
Прочие	1,8	0,6	0,9	0,2	–	0,3
Итого, г/м ²	3,0	31,5	127,5	219,8	179,4	182,2

Таким образом, выявлены различия в составе и структуре фитоконсорций разнотипных эстуариев, различающихся в первую очередь соленостью вод. В полигалинном эстуарии р. Суходол детерминантами

консорций в теплый период года выступали различные как водоросли (ульва, кладофора), так и травы (руппия, zostера японская). В полигалинном внеш-

нем эстуарии гавани Тихая Пристань и мезогалинном эстуарии р. Аввакумовка в зависимости от сезона и биотопа детерминантами были как водоросли (спирогира, хетоморфа), так и травы (зостера, руппия). В р. Суходол в составе консортов преобладали амфиподы, брюхоногие моллюски и изоподы. В р. Аввакумовка – преобладали амфиподы, гастроподы, изоподы, мизиды и личинки хирономид, а в гавани Тихая Пристань – гастроподы и молодь двустворчатых моллюсков семейства Mytilidae. Биомасса консортов увеличивалась по мере увеличения солености воды в эстуариях. В сезонном аспекте от июня к августу увеличивалось как разнообразие растительного компонента консорций, так и разнообразие консортов. Максимум биомассы, как растений, так и животных в эстуарии р. Суходол отмечен в августе на фоне максимального прогрева воды. Сезонная динамика обилия консортов была связана с процессами колонизации ими нарастающей растительности, в первую очередь, их молодью.

Литература:

1. Беклемишев В. Н. О классификации биоценологических (симфизиологических связей). 1951. Бюлл. МОИП. Отд. биол. 61 (5): 3–30.
2. Бурковский И. В., Столяров А. П., Колобов М. Ю. 2002. Пространственная организация и функционирование морской (эстуарной) прибрежной экосистемы. Усп. современ. биол. 122 (4): 316–325.
3. Колпаков Н. В., Ольховик А. В., Колпаков Е. В., Милованкин П. Г. 2012. Первые данные по составу и структуре фитоконсорций эстуариев зал. Петра Великого. Изв. ТИНРО. 170: 3–16.
4. Песенко Ю. А. 1982. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М.: Наука. 287 с.
5. Экосистема эстуария реки Невы: биологическое разнообразие и экологические проблемы / под ред. А. Ф. Алимова, С. М. Голубкова. 2008. М.: Товарищество научных изданий КМК. 477 с.

ГЕНЕТИКА

Шермуратов А.Р.¹, Халиков П.Х.², Курбонов А.К.³

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ АКТЕЛЛИКА

¹ассистент кафедры гистологии и медицинской биологии,

Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент

²профессор, доктор биологических наук, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент

³кандидат медицинских наук, доцент, Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент

EFFECT OF HIGH TEMPERATURE ON CYTOGENETIC EFFECTS AKTELLIK

Shermuratov Anwar Rahmonkulovich, assistant of the Department of Histology and Medical Biology, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Halikov Polat Hudzhamkulovich, Professor, Doctor of Biological Sciences, Tashkent Medical Academy, Tashkent

Kurbonov Abduburhon Kuziboevich, PhD, Associate Professor, Tashkent Medical Academy, Tashkent

АННОТАЦИЯ

В работе изучена мутагенная активность актеллика применяемого в сельском хозяйстве в условиях высокой температуры. Определяли частоту метафаз с перестройками и частоту перестроек на 100 метафаз. В опытах высокая температура оказывала модифицирующее влияние на появление мутации хромосом, увеличивая мутагенный эффект актеллика. Установлено влияние высокой температуры не только на частоту мутаций хромосом, но и на спектр мутаций хромосом при действии актеллика.

Ключевые слова: костный мозг, хромосомные мутации, пестицид, актеллик, температура.

ABSTRACT

In this paper we studied the mutagenic activity aktellik used in agriculture in the conditions of high temperature. Determined the frequency of metaphases with rearrangements and frequency of mutations per 100 metaphases. In the experiments, the high temperature modifying influence on the appearance of chromosome mutations, increasing the mutagenic effect of the actellic. The effect of high temperature not only on the frequency of mutations of chromosomes, but also on the spectrum of mutations of chromosomes in actellic movements.

Keywords: bone marrow, chromosomal mutations, pesticide, actellic, temperature.

Характер мутаций в значительной степени определяется условиями, в которых протекают процессы мутагенеза. В некоторых условиях потенциальные изменения, возникшие при действии мутагенов в молекуле ДНК, могут не проявляться в каче-

стве мутаций, в связи, с чем наблюдается восстановление исходных наследственных структур. По данным литературы, высокая температура оказывает влияние на мутационный процесс и может увеличить частоту мутаций [1, с.1, 3, с.1, 5, с.1, 6, с.1, 7, с.1]. Увеличение частоты мутаций хромосом при высокой температуре свидетельствует об увеличении мутагенной опасности пестицидов, применяемых в условиях высокой температуры окружающей среды.

В Узбекистане многие пестициды, особенно инсектициды и дефолианты, применяются в жаркие дни, когда температура воздуха поднимается до 37-38⁰ С. Несмотря на важность этого вопроса, генетический эффект пестицидов, применяемых в сельском хозяйстве при высоких температурах, не изучался. В связи с этим в данной работе была изучена мутагенная активность актеллика, применяемого в сельском хозяйстве Узбекистана.

Материал и методика.

Актеллик выпускается фирмой «Зеника-защита растений» Великобритания, в виде 50% концентрата эмульсии. Препарат хорошо растворим в большинстве органических растворителей, растворимость в воде - 5 мг/л. Разрушается кислотами и щелочами. Стабилен в водных растворах с нейтральной реакцией. Актеллик относится к умеренно опасным веществам III класса, и среднесмертельная доза при пероральном введении составляют для крыс - 2050мг/кг, для белых мышей - 1180 мг/кг [2, с.1].

Изучали цитогенетический эффект актеллика в клетках костного мозга после многократного введения при различных температурных режимах. Животные, использованные в опыте, были разделены на 4 группы. Первая группа животных при комнатной температуре (18-20⁰С) находились 30, 60 и 90 дней без актеллика. Вторая группа животных, находясь при комнатной температуре, 30, 60 и 90 дней ежедневно получали актеллик (12мг/кг). Третья группа животных находились при высокой температуре (37-

38 °С) 30,60 и 90 дней без актеллика. Животные в четвертой группе, находясь при высокой температуре 30,60 и 90 дней, ежедневно получали актеллик 12мг/кг.

Во всех опытах для цитогенетического анализа клеток костного мозга животных забивали через 24 часа после введения актеллика. Для учета aberrаций хромосом в метафазе препараты из клеток костного мозга готовили по общепринятой методике (4, с.2). Хромосомные препараты анализировали на микроскопе МБИ-6 с иммерсионным объективом 90^x. Для анализа выбирали метафазные пластинки, в которых все хромосомы размещались отдельно друг от друга. Анализировали возможные типы перестроек хромосом, выявляемых в метафазе. Частоту мутаций хромосом определяли по числу клеток с перестройками хромосом. При учете перестроек хромосом в каждом варианте опыта использовали не менее 6 животных, анализировали 300-1500 метафаз. Определяли частоту метафаз с перестройками (% метафаз, имеющих перестройки хромосом) и частоту перестроек (относительное число перестроек на 100 метафаз).

Цифровые данные обрабатывали по общепринятой методике.

Результаты исследования и их обсуждение.

В опытах животные, находящиеся в течение 30,60, 90 дней в условиях нормальной и высокой температуры, ежедневно получали 12 мг/кг актеллика. Данные о частоте aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей при многократном воздействии актеллика в условиях нормальной (18-20 °С) температуры представлены в таблице 1. При действии актеллика в течение 30 дней в клетках костного мозга у животных, содержащихся в нормальных температурных условиях (18-20°С), частота aberrаций хромосом оставались на уровне контроля (0,48%). У подопытных животных, получавший актеллик в течение 60 дней, в клетках костного мозга отмечено в 4 раза больше aberrаций хромосом (2,06%) по сравнению с контролем, а у животных, получавших актеллик в течение 90 дней, в клетках костного мозга отмечено в 8 раз больше aberrаций хромосом (4,10%) по сравнению с контролем (таблица 1).

Таблица 1

Частота aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей при многократном (30, 60 и 90 дней) действия актеллика (12мг/кг) при температуре 18-20°С

Вариант	Число изученных		Метафазы с перестройками		Перестройки	
	животных	метафаз	число	%	всего	На 100 метафаз
Контроль	8	1248	6	0,48	6	0,48
Актеллик (30 дней)	7	980	5	0,51	5	0,51
Актеллик (60 дней)	1	1450	30	2,06***	35	2,41***
Актеллик (90 дней)	8	1194	49	4,10***	56	4,69***

Примечание: * - различия относительно данных контрольной группы значимы (***) - P<0,001).

Данные о частоте aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей при многократном воздействии актеллика (12 мг/кг) в условиях высокой температуры (37-38°С) представлены в таблице 2. При действии актеллика в течении 30 дней в клетках костного мозга у животных, содержащихся в условиях высокой температуры (37-38°С), частота aberrаций составила (1,58%) и была в 3 раза больше по сравнению с контролем (0,51%). У подопытных животных, получивших актеллик в течение 60 дней, в клетках костного мозга отмечена в 8 раз больше aberrаций хромосом (3,96%) по сравнению с контролем (0,51%), а у животных, получавших в течение 90 дней, в клетках костного мозга отмечено такое число

aberrаций хромосом (4,54%), как в опыте, где животные получили актеллик в течении 60 дней (3,96%), т.е. не отмечено дальнейшего увеличения числа мутаций хромосом с удлинением времени поступления пестицида в организм.

Полученные данные свидетельствуют о том, что цитогенетический эффект актеллика на клетки костного мозга проявляется при его многократном воздействии. Также необходимо отметить: цитогенетический эффект актеллика повышается, когда он действует при высокой температуре (37-38°С) по сравнению с обычной (18-20°С). По-видимому, при высокой температуре создаются условия для превращения потенциальных изменений, возникающих при действии мутагена в структурные мутации.

Таблица 2

Частота aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей при многократном (30,60,90 дней) действии актеллика при температуре (37-38 °C)

Вариант	Число изученных		Метафазы с перестройками		Перестройки	
	животных	метафаз	Число	%	всего	На 100 метафаз
Контроль	8	780	4	0,51	4	0,51
Актеллик (30 дней)	6	820	13	1,58	13	1,58
Актеллик (60 дней)	9	910	37	4,06***	43	4,72***
Актеллик (90 дней)	7	834	38	4,55***	46	5,51***

Примечание: * - различия относительно данных контрольной группы значимы (***) - $P < 0,001$

В наших опытах высокая температура оказывала модифицирующее влияние на появление мутации хромосом, увеличивая мутагенный эффект актеллика, а сама температура не вызывала мутации хромосом, об этом свидетельствуют полученные нами данные (таблица 3). Как видно из таблицы, в клетках костного мозга у животных, находящихся в течение 30,60 и 90 дней, при высокой температуре

(37-38 °C) без воздействия актеллика, частота aberrаций хромосом оставалась на уровне контроля (0,49; 0,54 и 0,51% соответственно).

В клетках костного мозга у животных, находившихся при высокой температуре в течение 30,60 и 90 дней, и после этого срока получивших один раз актеллик в дозе (192 мг/кг), также не отмечено увеличения числа мутаций хромосом по сравнению с контролем (0,53; 0,62 и 0,64 соответственно).

Таблица 3

Частота aberrации хромосом в клетках костного мозга мышей при однократном введении актеллика (192 мг/кг) в зависимости от режима температуры

№	Вариант	Число животных	Число метафаз	Метафазы с перестройками	
				число	%
1	18-20°C 30 дней	9	982	5	0,50
2	37-38 °C 30 дней	11	1204	6	0,49
3	37-38 °C 30 дней+актеллик	9	1126	6	0,53
4	37-38 °C 60 дней	12	946	6	0,52
5	37-38 °C 60 дней+актеллик	9	1097	7	0,54
6	37-38 °C 90 дней	10	1128	5	0,62
7	37-38 °C 90 дней+актеллик	11	1085	7	0,64

Вероятно, в высокотемпературной среде происходило постепенное приспособление, то есть адаптация, что обеспечивало нормальную работу репарационной системы, или же эффект актеллика связан с уровнем активности функционального состояния органа в момент действия актеллика, поэтому он не влиял на частоту структурных мутаций хромосом в клетках костного мозга мышей, находившейся при высокотемпературном режиме в течении 30,60 и 90 дней.

В опытах наблюдали хромосомные и хроматидные мутации. Основные типы структурных мутаций хромосом (спектр) в клетках костного мозга мы-

шей после многократного действия высоких доз актеллика в условиях высокой температуре приведены в таблице 4. Хромосомные мутации наблюдались в малом количестве, их частота в опыте при температуре 18-20°C составила 18,75%, а хроматидные 81,3%. В опытах при температуре 37-38°C составила 10,13%, а хроматидные 89,87%. Как заметно, доля хроматидных мутаций при высокой температуре (37-38°C) была повышенной. Среди хроматидных мутаций наблюдали хроматидные концевые одиночные делеции, микрофрагменты, изолюкусные делеции, хроматидные симметричные транслокации. Многочисленными были хроматидные одиночные делеции.

Таблица 4

Типы перестроек хромосом в клетках костного мозга мышей при многократном (60, 90 дней) действии актеллика (12 м/кг), в зависимости от режима температуры

Температура	Число изученных перестроек	Хромосомные		Хроматидные	
		число	%	число	%
18-20 °C	91	17	18,75	74	81,25
37-38 °C	89	8	8,99**	81	91,01**

Примечание: * - различия относительно данных контрольной группы значимы (** - $P < 0,01$)

Таким образом, в наших опытах отмечены влияния высокой температуры не только на частоту мутаций хромосом, но и на спектр мутаций хромосом при действии актеллика.

Список литературы

1. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. 1989. Наследственность человека и мутагенность внешней среды. М.: Медицина: 50.
2. Вонтенко Г.А., Луканева А.М., Радионов Г.А. 1981. Материалы к токсикологии гигиеническому нормированию актеллика в воздухе рабочей среды. Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. М. Вып. 12: 127-128.
3. Илвинская Н.Б. 1990. Согласованность изменений компактности полигенных хромосом и их плеч в клетках слюнных желез при

акклимации личинок мотыля различным температурам. Цитология. 10: 993-1001.

4. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. 1988. Киев: 55-89.
5. Ташходжаев П.И., Халиков П.Х., Курбанов А.К., Шарафитдинходжаев Н.Ш. 2005. Изучение цитогенетического эффекта пестицидов при различных температурных режимах. Avicena. 1-2: 35.
6. Zima San, Svesova Zusana, Lukas Siri et al. 1989. Indikace pušoberic mutagennih a embryotoxikych factoru prostredi na modleu volne zijicich obratlovcu. Zivot prostred. 23(1): 21-25, 3 (54): 56.
7. Vezma R.S. 1980. The Duration of G₁, S, G₂ and mitosis at four different temperatures in Zea mays Z. as measured with H³- thymidine. Cytologia. 45: 327-383

ВИРУСОЛОГИЯ

Боровков И.М.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ВИРУСОВ ЭБОЛА И МАРБУРГА

*Государственное бюджетное образовательное учреждение
города Москвы лицей № 1535, ученик 11 класса*

АННОТАЦИЯ

Вирусы Эбола и Марбург относятся к группе вирусов, вызывающих геморрагическую лихорадку. Вирус Эбола представлен пятью различными видами (Заир, Судан, берег слоновой кости, Бундибуджио и Рестон), которые отличаются по вирулентности и патогенности для человека. Заражение человека происходит при прямом контакте вирус-содержащей жидкостью от заболевшего человека. Инкубационный период составляет от 8 до 12 дней. Летальность в периоды эпидемии достигает 70%. Заболевание имеет острое начало и неспецифические симптомы (лихорадка, недомогание, миалгия). Признаки нарушения коагуляции остаются ограничены кровоизлияниями в конъюнктиву и петехиальную сыпь. Персистенция вируса Эбола может сохраняться в течение некоторого времени в сперме и грудном молоке.

ABSTRACT

Viruses Ebola and Marburg are a group of viruses that cause hemorrhagic fever. Ebola presents five different species (Zaire, Sudan, ivory coast, Bundibugyo and Reston), which differ in virulence and pathogenicity for humans. Human infection occurs through direct contact with virus-containing fluid from a diseased person. The incubation period is usually from 8 to 12 days. Mortality during periods of epidemics of Ebola virus reaches 70%. The disease has an acute onset and nonspecific symptoms (fever, malaise, myalgia). Signs of coagulation disorders, as a rule, remain limited by hemorrhages in the conjunctiva and petechial rash. Persistence of the Ebola virus may persist for some time in the semen and breast milk.

Ключевые слова: вирус Эбола, вирус Марбурга, геморрагическая лихорадка, эпидемия

Keywords: Ebola virus, Marburg virus, hemorrhagic fever, epidemic

Вирусы Эбола и Марбурга относятся к числу наиболее вирулентных патогенов человека, вызывая тяжелые заболевания, протекающие в виде молниеносной формы с развитием септического шока [1]. Летальность в периоды эпидемии от вируса Эбола в Западной Африке достигает 70% [2].

Вирусы Эбола и Марбурга являются одноцепочечными РНК вирусами семейства Filoviridae, которые напоминают рибовирусы и парамиксовирусы по организации генома и механизмам репликации.

Вирусы Эбола и Марбурга относятся к группе вирусов, вызывающих геморрагическую лихорадку, в которую включены вирус лихорадки долины Рифт, Конго-Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка Ласса, желтая лихорадка, лихорадка денге и геморрагическая лихорадка [4; 5].

В настоящее время доказано, что ряд представителей вируса Марбург различаются по патогенности для человека. Так, общая летальность в 1967 от вспышки в Европе составила 21%, тогда как смертность в 2000 году в демократической Республике Конго и в 2005 году в Анголе достигала 90% [6]. Вирус Эбола представлен пятью различными видами (Заир, Судан, берег слоновой кости, Бундибуджио и Рестон), которые отличаются по вирулентности и патогенности для человека [7; 8]. Первые вирусы были выделены в 1976 году в Заире, вызвав несколько крупных вспышек с уровнем смертности от 55 до 88% [3]. Судан-вирус связан с 50% летальностью в эпидемиях в Судане в 1970 и 2004 годах и в Уганде в 2000 году [9]. Вирус берега слоновой кости был идентифицирован случайно при вскрытии трупа шимпанзе. Бундибуджио вирус появился в Уганде в 2007 году, вызвав вспышки геморрагической лихорадки с низкой летальностью (около 30%) [2]. Вирус Рестон заметно отличается от других видов вируса Эбола. Он был впервые выявлен, когда вызвал вспышку смертельной инфекции у макак, импортируемых в Соединенные Штаты в 1989 году. Еще три вспышки произошли среди нечеловеческих приматов в США и Европе. В настоящее время доказан природный очаг вируса - водохранилища на Филиппинах [2].

Эпидемиология. Filoviruses были впервые открыты в 1967 году, когда произошел завоз инфицированных обезьян из Уганды в Германию и Югославию. С 1990 года отмечается увеличение частоты и продолжительности эпизодов заболевания. Вспышка в Западной Африке в 2014 году является одной из крупнейших эпидемий вируса Эбола, когда-либо зарегистрированных [7; 16]. Хотя большинство предыдущих вспышек лихорадки Эбола произошли в центральной Африке, эта вспышка началась в

Гвинею в конце 2013 года и была подтверждена Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в марте 2014 года [3; 16]. Эпидемия началась с заболевания двух-летнего ребенка в Гвинею, у которого развилась лихорадка, рвота и черный стул. Вспышка впоследствии распространилась в Либерии, Сьерра-Леоне, Нигерии, Сенегале и Мали. Анализ последовательности вирусов, выделенных от больных в Сьерра-Леоне, показал, что эпидемия стала результатом устойчивой передачи вируса от человека к человеку без участия дополнительных резервуаров животных [4]. Коэффициент летальности составил около 70% [2]. Масштаб эпидемии, особенно в Либерии и Сьерра-Леоне был недооценен, что связано с неполным охватом медицинской помощью населения [12]. По состоянию на 29 октября 2014 года, совокупное количество вероятных подозреваемых и лабораторно подтвержденных случаев вируса Эбола достигло 13,567 [13].

Вспышка заболевания, вызванного вирусом Эбола, обычно начинается после контакта человека с инфицированным животным (например, употребление в пищу инфицированного мяса, жидкости). Как только человек заболевает, болезнь передается другим людям при прямом контакте с кровью, жидкостями организма или при прямом контактировании с заболевшим человеком. Исследования нечеловеческих приматов обнаружили, что животные могут быть заражены вирусом Эбола или Марбург воздушно-капельным путем, при попадании капель на слизистые рта или в глаза [4; 5]. Это свидетельствует о возможном заражении человека через загрязненные руки.

До эпидемии в Западной Африке, вспышки вирусов Эбола и Марбург продолжались от нескольких недель до нескольких месяцев. Это объяснялось

развитием заболевания в регионах с низкой плотностью населения. Однако эпидемия в Западной Африке показала, что вирус Эбола характеризуется быстрым распространением, как в результате экстенсивного движения инфицированных лиц и распространением болезни в городских районах, так и отсутствием адекватных средств индивидуальной защиты и медицинских центров изоляции [11].

Передача вируса чаще всего происходит через прямой контакт поврежденной кожи или незащищенных слизистых оболочек с содержащей вирус жидкостью [16]. Вирус Эбола был обнаружен в крови, поте, кале, рвотных массах, моче, сперме, слюне и грудном молоке. Вирус, присутствующий на поверхности кожи, может привести либо от вирусной репликации в дермальных и эпидермальных структурах или стать источником заражения при переносе его на слизистые.

Вирус Эбола может передаваться при контакте с загрязненными поверхностями, так как способен сохраняться на них от нескольких часов до нескольких дней.

Патогенез. Вирус Эбола проникает в организм через слизистые оболочки, пораженную кожу или парентерально. Патоген способен размножаться в различных клетках, включая моноциты, макрофаги, дендритные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты, гепатоциты, клетки надпочечника и эпителиальные клетки [10; 11].

Независимо от входных ворот инфекции, первыми поражаются макрофаги и дендритные клетки. Быстрому системному распространению способствует вирус-индуцированное подавление выработки интерферона [16]. По мере того как заболевание прогрессирует, поражаются все новые клетки органов и тканей с развитием очагов некроза (схема 1).

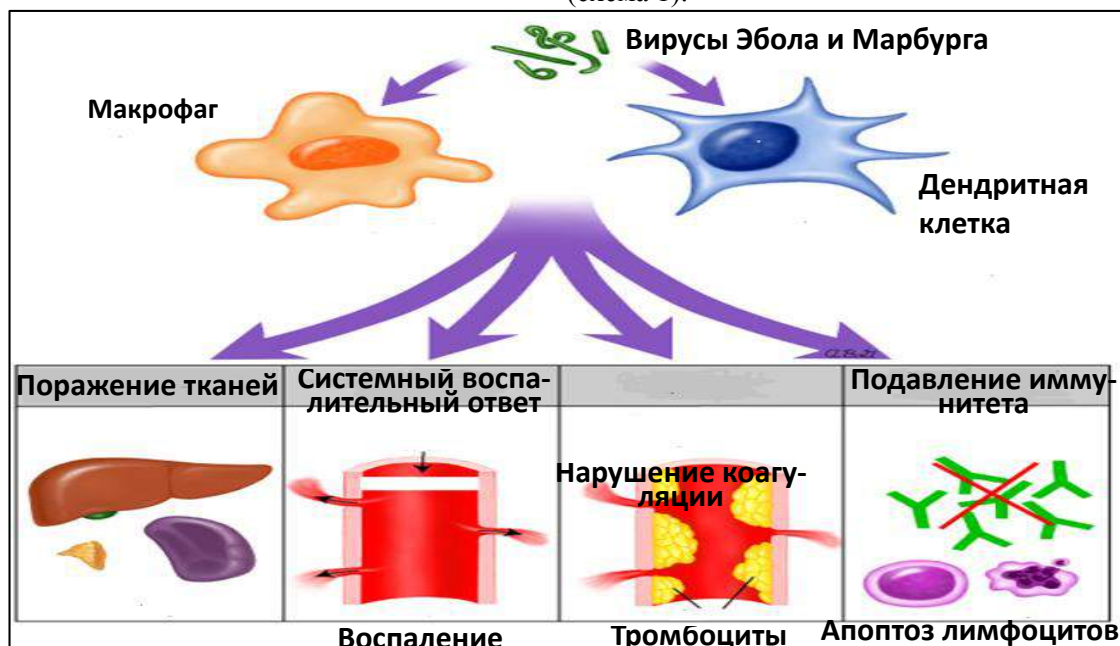


Схема 1. Патогенез вирусов Эбола и Марбурга

Помимо обширного повреждения тканей, втруссы индуцируют системный воспалительный синдром, вызывая высвобождение цитокинов, хемокинов и других провоспалительных медиаторов из зараженных макрофагов и других клеток [14]. Макрофаги, пораженные вирусом Эбола Заир, продуцируют фактор некроза опухоли-Альфа, интерлейкин-1 β , IL-6, белок хемотаксиса макрофагов (MCP)-1 и оксид азота (NO). Таким образом, выраженность клинических проявлений связана не с прямым токсическим действием вируса, а ответной реакцией организма на него.

Нарушение свертывания при поражении вирусами Эбола и Марбурга связаны экспрессией на поверхности пораженных макрофагов тканевого фактора, запускающего внешний путь гемостаза. По мере прогрессирования заболевания и поражения печени приводит к снижению плазменных факторов свертывания крови.

Подавление адаптивного иммунитета через нарушение функции дендритных клеток и процессов апоптоза лимфоцитов, приводит к подавлению антиген-специфических иммунных реакций. Дендритные клетки, которые несут главную ответственность за инициацию адаптивного иммунного ответа, являются основной мишенью для репликации вируса. Исследования *In vitro* показали, что зараженные клетки не подвергаются созреванию и не в состоянии экспрессировать антигены для Т-лимфоцитов, что объясняет отсутствие образования антител при заражении вирусом Эбола [9; 15]. Адаптивный иммунитет также снижается из-за массовой гибели лимфоцитов.

Клиническая картина. Клинические проявления заболевания, вызванного вирусом Эбола и Марбург, схожи в своих проявлениях, но отличаются тяжестью течения и летальностью [3]. Инкубационный период составляет от 8 до 12 дней (в диапазоне от 2 до 21 дня). Первичными проявлениями при заражении вирусом Эбола неспецифичны и включают лихорадку (87%), усталость (76%), рвоту (68%), диарею (66%) и потерю аппетита (65%). Клиническое течение болезни включает:

●**Неспецифические гриппоподобные симптомы:** заболевание начинается с резкого появления температуры, озноба и общего недомогания. Развивается слабость, анорексия, сильная головная боль, боль в мышцах туловища и поясницы [11]. Высокая температура сопровождается брадикардией. Может присутствовать непродуктивный кашель, фарингит и ощущение кома в горле.

●**Сыпь.** Диффузная эритематозная пятнисто-папулезная сыпь появляется на 5-7 день болезни и локализована на лице, шее, туловище и руках.

●**Желудочно - кишечного симптомы** развиваются через несколько дней после начала заболевания и включают диарею, тошноту, рвоту и боли в животе.

●**Кровотечение** обычно проявляется в виде петехий, подкожных гематом и кровоизлияний в слизистые. Кишечное кровотечение развивается в терминальной стадии болезни.

Лабораторные показатели характеризуются развитием лейкопении в виде лимфопении, тромбоцитопении (в диапазоне от 50 000 до 100 000/мкл), повышением трансаминаз, явлениями гиперкоагуляции с развитием ДВС-синдрома и протенинурии [12].

При благоприятном прогнозе улучшение состояния наступает на 6-7 сутки болезни, при неблагоприятном исходе - смерть обычно происходит между 6 и 16 днем. Неблагоприятными прогностическими факторами являются тахипноэ, анурия, делирий, кома и явления шока. У больных, выживших после заражения вирусом Эбола, как правило, признаки клинического улучшения появляются в течение второй недели болезни. Уровень виремии у них снижается и полностью исчезает в течение второй недели в связи с появлением вирус-специфических антител [13].

Заключение

●Вирусы Эбола и Марбурга относятся к числу наиболее вирулентных патогенных для человека.

●Заражение человека происходит при прямом контакте с кровью или другой вирус-содержащей жидкостью от заболевшего человека.

●Резервуар вируса в природе не известен. Есть данные, что некоторые виды летучих мышей служат источником инфекции как для людей, так и для диких приматов.

●Инкубационный период составляет обычно от 8 до 12 дней, но может колебаться от 2 до 21 дней.

●Заболевание имеет острое начало и неспецифические симптомы, такие как лихорадка, недомогание, миалгии. По мере прогрессирования заболевания у пациентов развивается прострация, ступор, артериальная гипотензия. Признаки нарушения коагуляции, как правило, остаются ограничены кровоизлияниями в конъюнктиву петехиальную сыпь. Персистенция вируса Эбола может сохраняться в течение некоторого времени в сперме и грудном молоке.

Список литературы

Ansumana R, Bonwitt J, Stenger DA, Jacobsen KH. Ebola in Sierra Leone: a call for action. *Lancet* 2014; 384:303.

Baize S, Pannetier D, Oestereich L, et al. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med* 2014; 371:1418.

Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM, et al. Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. *Science* 2009; 325:204.

Centers for Disease Control and Prevention. First imported case of Ebola diagnosed in the United States.

- <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/united-states-imported-case.html> (Accessed on October 01, 2014).
- Centers for Disease Control and Prevention. Cases of Ebola diagnosed in the United States <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/united-states-imported-case.html> (Accessed on October 15, 2014).
- Chan M. Ebola virus disease in West Africa--no early end to the outbreak. *N Engl J Med* 2014; 371:1183.
- Frieden TR, Damon I, Bell BP, et al. Ebola 2014--new challenges, new global response and responsibility. *N Engl J Med* 2014; 371:1177.
- Fauci AS. Ebola--underscoring the global disparities in health care resources. *N Engl J Med* 2014; 371:1084.
- Green A. Ebola emergency meeting establishes new control centre. *Lancet* 2014; 384:118.
- Kreuels B, Wichmann D, Emmerich P, et al. A Case of Severe Ebola Virus Infection Complicated by Gram-Negative Septicemia. *N Engl J Med* 2014.
- Kortepeter MG, Bausch DG, Bray M. Basic clinical and laboratory features of filoviral hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2011; 204 Suppl 3:S810.
- Mirkovic K, Thwing J, Diack PA. Importation and containment of ebola virus disease - senegal, august-september 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014; 63:873.
- Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D, et al. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, virus load, and nitric oxide levels. *J Virol* 2004; 78:10370.
- Shuaib F, Gunnala R, Musa EO, et al. Ebola virus disease outbreak - Nigeria, july-september 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014; 63:867.
- Towner JS, Sealy TK, Khristova ML, et al. Newly discovered ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog* 2008; 4:e1000212.
- WHO Ebola Response Team. Ebola virus disease in West Africa--the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N Engl J Med* 2014; 371:1481.

БИОФИЗИКА

Гайибова С.Н.¹, Тукфатуллина И.И.²

КОМПЛЕКСОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАРА-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ С ИОНАМИ КОБАЛЬТА

¹магистр биологии, младший научный сотрудник, Институт Биоорганической химии, г.Ташкент

²кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт Биоорганической химии, г.Ташкент

COMPLEXOMETRIC CHARACTERISTICS OF *para*-AMINOBENZOIC ACID WITH COBALT IONS

Gayibova Sabina Narimanovna, MSc, junior scientific researcher, Institute of Bioorganic chemistry, Tashkent

Tukhfatullina Inor Ilyasovna, Candidate of Science, senior scientific researcher, Institute of Bioorganic chemistry, Tashkent

АННОТАЦИЯ

В работе методом кондуктометрического титрования исследовалась возможность существования комплекса пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) с ионами кобальта в водных и спиртовых растворах и было показано, что ПАБК является слабым комплексобразователем при низких концентрациях лиганда и соли, однако при повышении количества обоих компонентов при постоянном объеме растворителя можно добиться увеличения параметров устойчивости.

ABSTRACT

In this work the complexometric characteristics of cobalt salts (II) of *p*-aminobenzoic acid in water and ethanol was observed. It was shown that at low ligand and salt concentrations *p*-aminobenzoic acid seems to have poor chelator activity while increased concentrations of both components at constant chamber volume may cause the increase of stability parameters.

Ключевые слова: комплексоны, пара-аминобензойная кислота, ионы кобальта, кондуктометрия, константа устойчивости.

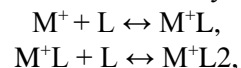
Keywords: complexones, *para*-aminobenzoic acid, cobalt ions, conductometry, stability constant

Комплексоны – это химические соединения, исключительной особенностью которых является образование в растворе с ионами металлов очень прочных комплексных соединений [8, с. 3]. Фиксация катионов металлов различными лигандами приводит к улучшению многих характеристик полимерных материалов и возникновению новых важных свойств. Поэтому изучение закономерностей реакций их комплексообразования является одним из актуальных и фундаментальных научных направлений, как современной координационной химии, так и молекулярной биологии [3, с. 1153].

В литературе имеются данные о применении комплекса пара-аминобензоата кобальта при лечении животных и в качестве добавки при подкормке телят с хорошим результатом [1, с. 170]. А в работе [4, с.31] впервые был получен кристалл пара-аминобензоата кобальта (II) и установлена его кристаллическая структура методом рентгеноструктурного анализа. В данной работе методом кондуктометрического титрования исследовалась возможность существования комплекса пара-аминобензойной кислоты (ПАБК) с ионами кобальта в водных и спиртовых растворах.

Для изучения комплексообразующих свойств ПАБК в растворе (водном и спиртовом) использовался метод кондуктометрического титрования, как указано в работе [2, с.614].

Исследование электропроводности ПАБК как в водном растворе, так и в спирте в присутствии солей CoCl_2 проводилось при различных концентрациях. Исходя из данных рентгеноструктурного анализа [4, с.31] было предположено, что при $L/M = 2$ устанавливается равновесие и ПАБК образует с ионами кобальта соединение по типу:



где L и M концентрации ионов лиганда и металла соответственно.

Если сохранять постоянным количество лиганда, увеличивая L/M, то проводимость раствора равномерно увеличивается соответственно увеличению концентрации соли, и для устойчивых комплексонов на кривой титрования наблюдается так называемая область плато, соответствующая области насыщения [2, с.614].

На рис.1 (А, Б) показаны типичные кривые титрования зависимости проводимости в водном (А, Б) и спиртовом растворах (В, Г) от соотношения концентраций.

На графике 1 (А) представлены данные, отображающие электропроводность веществ в водном

растворе, при котором концентрация и лиганда и соли была минимальной и составляла $2 \cdot 10^{-4}$ М и 10^{-4} М соответственно. На графике 1 (Б) представлена кривая титрования, при которой конечная концентрация и лиганда и соли составляла $2 \cdot 10^{-2}$ М и 10^{-2} М.

Как видно из графиков в обоих случаях область плато оказывается недостижима, однако при $L/M \approx 2$ наблюдается небольшой порог.

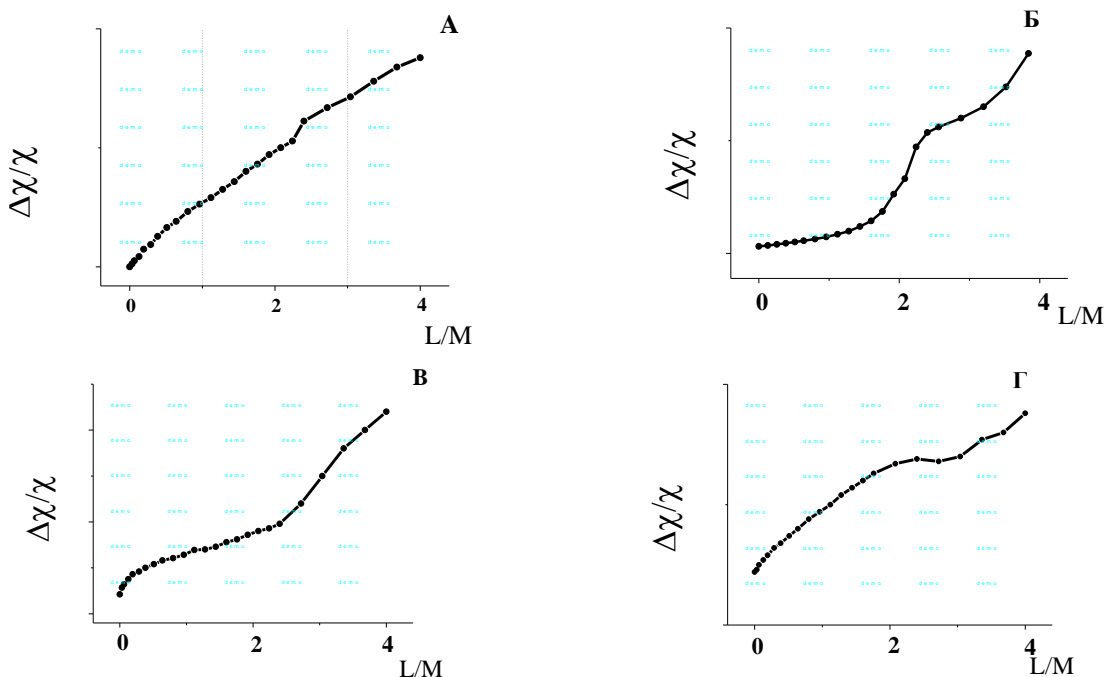


Рис.1. Типичные кривые кондуктометрического титрования ПАБК в водном растворе (А, Б) и в спиртовом (В, Г) с ионами Co^{2+} .

На рис. 1 (В, Г) представлены типичные кривые титрования в спиртовом растворе. Аналогично описанным выше данным, в первом случае (рис.1, В) представлены данные с минимальными значениями концентраций, во втором (рис.1, Г) – максимальные. В обоих случаях область плато размыта, однако более четко выражен порог при $L/M \approx 2$.

По кривым титрования в области предполагаемого связывания катиона и лиганда были рассчитаны количественные характеристики комплексообразования в водном и спиртовом растворах: константы комплексообразования (K) и свободные энергии Гиббса (ΔG) (табл. 1 и 2).

Таблица 1.

Термодинамические параметры комплексообразования ПАБК с двухвалентным катионом Co^{2+} в воде при $T=293^{\circ}K$.

	L	M	L	M	L	M	L	M
Конц-ия, М	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$
L/ M	2:1		1:4		1:2		2:1	
K, л*моль ⁻¹	-5,02		2,74		8,11		0,65	
ΔG (кДж)	—		-2201,38		-4571,33		940,83	

Таблица 2.

Термодинамические параметры комплексообразования ПАБК с двухвалентным катионом Co^{2+} в этаноле при $T=293^{\circ}K$.

	L	M	L	M	L	M	L	M
Конц-ия, М	$2 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$
L/ M	2:1		1:4		1:2		2:1	
K, л*моль ⁻¹	$-2 \cdot 10^8$		1,13		0,11		$-1 \cdot 10^8$	
ΔG (кДж)	—		-275,48		4891,75		—	

Как видно из данных, приведенных в таблицах 1 и 2 в случаях, когда концентрация лиганда превышала концентрацию соли, значение константы устойчивости являлось отрицательным, что не давало возможности высчитать значения свободной энергии Гиббса. Однако в случаях, когда соли в экспериментальной ячейке присутствовало в избытке,

значения K были положительными, а значения ΔG – отрицательными, что свидетельствует о самопроизвольном протекании процесса комплексообразования. Более наглядно полученные данные представлены на рис. 2.

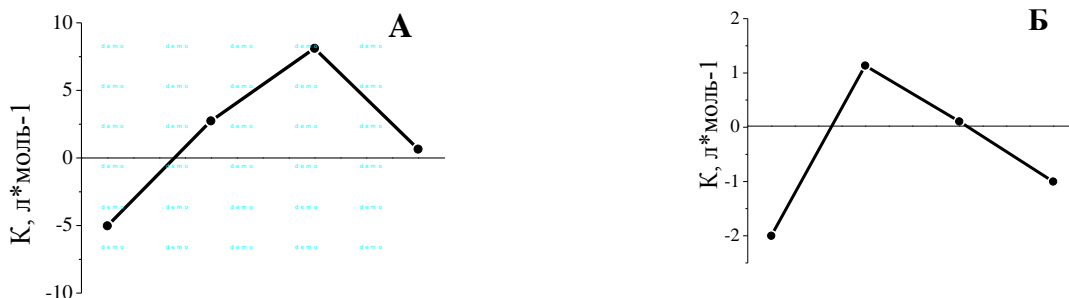


Рис.2. Зависимость константы устойчивости комплекса от концентрации растворов в экспериментальной ячейке и значений L/M в водном растворе (А) и в спиртовом (Б).

На обоих графиках наблюдаются пики, соответствующие максимальным значениям константы устойчивости, эти значения положительны и получены при экспериментах, когда в растворе присутствовал избыток соли. При этом положительное значение K свидетельствует о самопроизвольном процессе комплексообразования, что также подтверждается отрицательными значениями свободной энергии Гиббса ΔG .

Полученные данные позволяют предположить, что ПАБК образует малоустойчивый, диссоциирующий в растворе комплекс. При этом устойчивость комплекса повышается при увеличении концентрации обоих компонентов в экспериментальной ячейке, а также при добавлении соли в избытке по отношению к лиганду. Если объем экспериментальной ячейки сохранять постоянным, повышая при этом концентрации компонентов, то расстояние между ионами сокращается, усиливая их взаимное притяжение. Отрицательные значения K при низкоконцентрированных растворах говорит о том, что для образования комплекса необходимо приложить

дополнительную энергию, так как в сильноразбавленном растворе вероятность встречи ионов понижается. Тем не менее, все значения $K \ll 10^5$, что является слишком низким значением и не позволяет охарактеризовать исследованный лиганд как эффективный комплексообразователь [2, с.616].

Для сравнения результатов нами было повторено кондуктометрическое титрование наиболее распространенного эффективного комплексообразователя ЭДТА с ионами кальция, так как этот комплексообразователь наиболее часто упоминается как эталон формирования устойчивых комплексов. Полученные данные позволяют исключить возможность ошибки прибора или других погрешностей, которые могли иметь место при проведении экспериментов с ПАБК. Широко известно, что ЭДТА с ионами кальция образует устойчивые малодиссоциированные комплексы, растворимые в воде [5, с. 21]. Как видно на рис.3 при соотношении $L/M = 1$ кривая выходит на область плато, соответственно наблюдается насыщение и формирование комплекса.

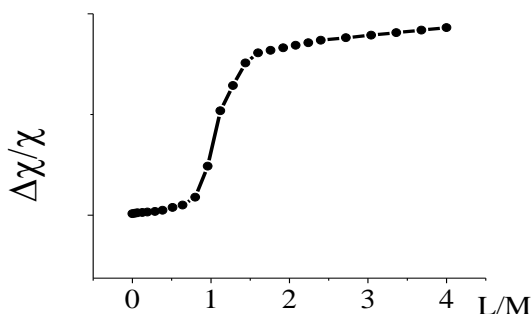


Рис.3. Типичная кривая кондуктометрического титрования ЭДТА с ионами Ca^{2+} в водном растворе.

Термодинамические параметры (константа комплексообразования (K) и свободная энергия Гиббса (ΔG)), представленные в таблице 3, также подтверждают образование устойчивого комплекса.

Концентрация комплексона при этом не превышала 10^{-4} М.

Таблица 3.
Термодинамические параметры комплексообразования ЭДТА с двухвалентным катионом Ca^{2+} в дистиллированной воде при $T=293^\circ\text{K}$.

Катион (10^{-4}M)	$K \cdot 10^5$, л*моль $^{-1}$	ΔG (кДж)
Ca^{2+}	12,22	-6097,8

Таким образом, используя значения K , ΔG и графики титрования, можно сделать вывод, что ПАБК в водных и спиртовых растворах является слабым комплексобразователем при низких концентрациях лиганда и соли, однако при повышении количества обоих компонентов можно добиться увеличения параметров устойчивости. В отличие, например, от классического комплексона ЭДТА, для которого даже при низких концентрациях наблюдалась классическая картина формирования эффективного комплекса.

В связи с вышеописанными результатами положительный эффект, упоминаемый в работе [1, с. 170] может объясняться процессом синергизма, типичным для различных витаминно-минеральных комплексов, таких, например, как взаимодействие витамина Е и селена (усиление антиоксидантного эффекта обоих веществ); витамина В6 и магния (усвоение магния, проникновение и удержание его в клетках); витамина D и кальция (улучшение усвоения кальция, потенцирование усвоения кальция костной тканью, и т.д.) [6, с. 855]. Что касается ПАБК и ионов кобальта – то оба компонента участвуют в процессах кроветворения, в регуляции кишечной микрофлоры и вполне возможно усиливают действие друг друга при одновременном употреблении.

Список литературы:

1. Азизов М. А. 1969. О комплексных соединениях некоторых микроэлементов с биоактивными веществами. 2-е изд., перераб. и доп. Ташкент: Медицина. с. 165-172.
2. Андреев И.М., Маленков Г.Г., Шкроб А.М., Шемякин М.М. 1971. Кондуктометрическое исследование комплексов циклических дипептидов и пептидов с ионами щелочных металлов. Молекулярная биология. 5(4): 614-623.
3. Дятлова Н. М., Ластовский Р. П. 1965. Строеие комплексонов и их комплексообразующая способность. Успехи химии. 34(7):1153–1184.
4. Зияев М.М., Ашууров Д.М., Талипов С.А. 2013. Актуальные проблемы развития биоорганической химии. Сборник тезисов международной научной конференции. 15-16 ноября. с. 31-32.
5. Крешков А.П. 1965. Основы аналитической химии. Изд. «Химия», М. с.20-30.
6. Ребров В.Г., Громова О.А. 2008. Витамины, макро- и микроэлементы. М.: Гэотар-медиа. с. 854-860.
7. Усманова Г.Ш. 2011. Полиядерные комплексы кобальта (II) и меди (II) с гиперразветвленными полиэфиополикарбонowymi кислотами. Тема диссертации и автореферата по ВАК 02.00.01 на соискание ученой степени кандидата химических наук. Казань. с.3-10.

БИОТЕХНОЛОГИЯ

(В ТОМ ЧИСЛЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ)

Пошехонцева В.Ю.¹, Гулевская С.А.², Донова М.В.³

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНО- И ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ *STREPTOMYCES* SPP. – ПРОДУЦЕНТОВ ТАКРОЛИМУСА

¹магистрант, Пушчинский государственный естественно-научный институт, г. Пушино

²кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, г. Пушино

³доктор биологических наук, заведующая лабораторией, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Российской академии наук, г. Пушино

COMPARATIVE STUDY OF PHENO- and GENOTYPE FEATURES and IDENTIFICATION of *Streptomyces* spp. STRAINS PRODUCING TACROLIMUS

Poshekhontseva Veronika, MD student, Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino

Gulevskaya Serafima, PhD (Biology), Senior Researcher, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino

Donova Marina, DSci (Biology), Head of Laboratory, Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Professor, Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino

АННОТАЦИЯ

Штаммы *Streptomyces* sp. VKM Ac-2618D, *Streptomyces* sp. T60 и *Streptomyces* sp. ATCC 55098 с разной эффективностью синтезируют такролимус (FK-506) – высоковольтребованный в медицинской практике иммуносупрессант поликетидной структуры. На основании результатов филогенетического анализа и изучения морфо-физиологических характеристик штаммы *Streptomyces* sp. VKM Ac-2618D и *Streptomyces* sp. T60 отнесены к виду *S. tsukubaensis*, а штамм *Streptomyces* sp. ATCC 55098 – к виду *S. tacrolimicus*. Установлены преимущества использования *S. tsukubaensis* VKM Ac-2618D для практического использования в качестве продуцента такролимуса, и штамма *S. tacrolimicus* ATCC 55098 – для получения аскомицина (FK-520).

ANNOTATION

Strains of *Streptomyces* sp. VKM Ac-2618D, *Streptomyces* sp. T60 and *Streptomyces* sp. ATCC 55098 are capable of producing tacrolimus (FK-506) which is known as high-value immunosuppressing agent widely used in medicine. The results phylogenetic analysis and estimation of morpho-physiological features allowed to sort the strains *Streptomyces* sp. VKM Ac-2618D and *Streptomyces* sp. T60 to *S. tsukubaensis*, whilst the strain *Streptomyces* sp. ATCC 55098 – to *S. tacrolimicus* species. A strain of *S. tsukubaensis* VKM Ac-2618D is recommended for practical application for tacrolimus production, while *S. tacrolimicus* ATCC 55098 may be used for the production of ascomycin (FK-520).

Ключевые слова: такролимус, *Streptomyces tsukubaensis*, *Streptomyces tacrolimicus*.

Keywords: tacrolimus, *Streptomyces tsukubaensis*, *Streptomyces tacrolimicus*

Природный 23-членный макроциклический поликетид такролимус (FK-506) в настоящее время признан во всем мире как наиболее эффективный иммуносупрессорный агент, широко используемый в медицинской практике: для подавления отторжения чужеродных органов и тканей в трансплантологии, дерматологии, офтальмологии, терапии аутоиммунных заболеваний и др. Интерес мировых производителей фармпрепаратов к производству такролимуса обусловлен его высокой иммуносупрессорной активностью при минимальных, в сравнении с другими препаратами этого класса (например, циклоспорином), побочными воздействиями. Список продуцентов FK-506 в настоящее время насчитывает около 20 природных и мутантных стрептомицетов, однако, видовая принадлежность большинства штаммов до сих пор неясна.

Объектами настоящего исследования являлись штаммы *Streptomyces* sp. VKM Ac-2618D [1], *Streptomyces* sp. T60 и *Streptomyces* sp. ATCC 55098 [2], отличающиеся по уровню продукции такролимуса и селективности биосинтеза.

Целью работы являлось сравнительное изучение макроморфологических, фенотипических и генотипических характеристик штаммов, определение их видовой принадлежности и оценка дальнейших перспектив практического использования.

Методы.

Штаммы поддерживали на среде МДА следующего состава (г/л): растворимый крахмал – 10, дрожжевой экстракт – 4, солодовый экстракт – 10, агар – 20, pH – 7,0. Морфологические характеристики оценивали согласно протоколу International

Streptomyces Project (ISP) [3]. Выращивали культуры на агаризованных средах при температуре 29°C в течение 4-14 дней. Цветовую гамму окраски воздушного и субстратного мицелия и растворимых пигментов оценивали по шкале RAL K5 Classic gGmbH (Germany). Биосинтез FK-506 осуществляли как описано ранее [1]. Поликетиды анализировали ВЭЖХ [4]. Утилизацию источников углерода определяли по изменению окраски субстратов в тест-системе API-50 CH, активность ферментов - в тест-системе API ZIM согласно рекомендациям API Laboratory Product Ltd (Farnborough). Нуклеотидный состав геномной ДНК, экстрагированной модифицированным способом [5], выясняли по температуре плавления, измеренной на спектрофотометре Beckman Coulter DU800 (Великобритания). Последовательности гена 16S рРНК определяли при амплификации с универсальными бактериальными праймерами 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1492R (5'-

TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). Полученные фрагменты секвенировали с помощью реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v.3.1 с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3730 Applied Biosystems. Филогенетический анализ проводили на основе последовательностей фрагментов гена 16S рРНК, выровненных с помощью программы CLUSTAL X с последовательностями референтных штаммов рода *Streptomyces* из базы данных NCBI. Построение филогенетического дерева производили с помощью пакета программ MEGA 4 [6] с использованием метода "neighbour-joining" [7].

Результаты.

Установлено, что штаммы *Streptomyces* sp. ВКМ Ас-2618Д и *Streptomyces* sp. Т60 преимущественно синтезируют FK-506, в то время как основным продуктом штамма *Streptomyces* sp. ATCC 55098 являлся FK-520 (аскомицин) (рис.1).

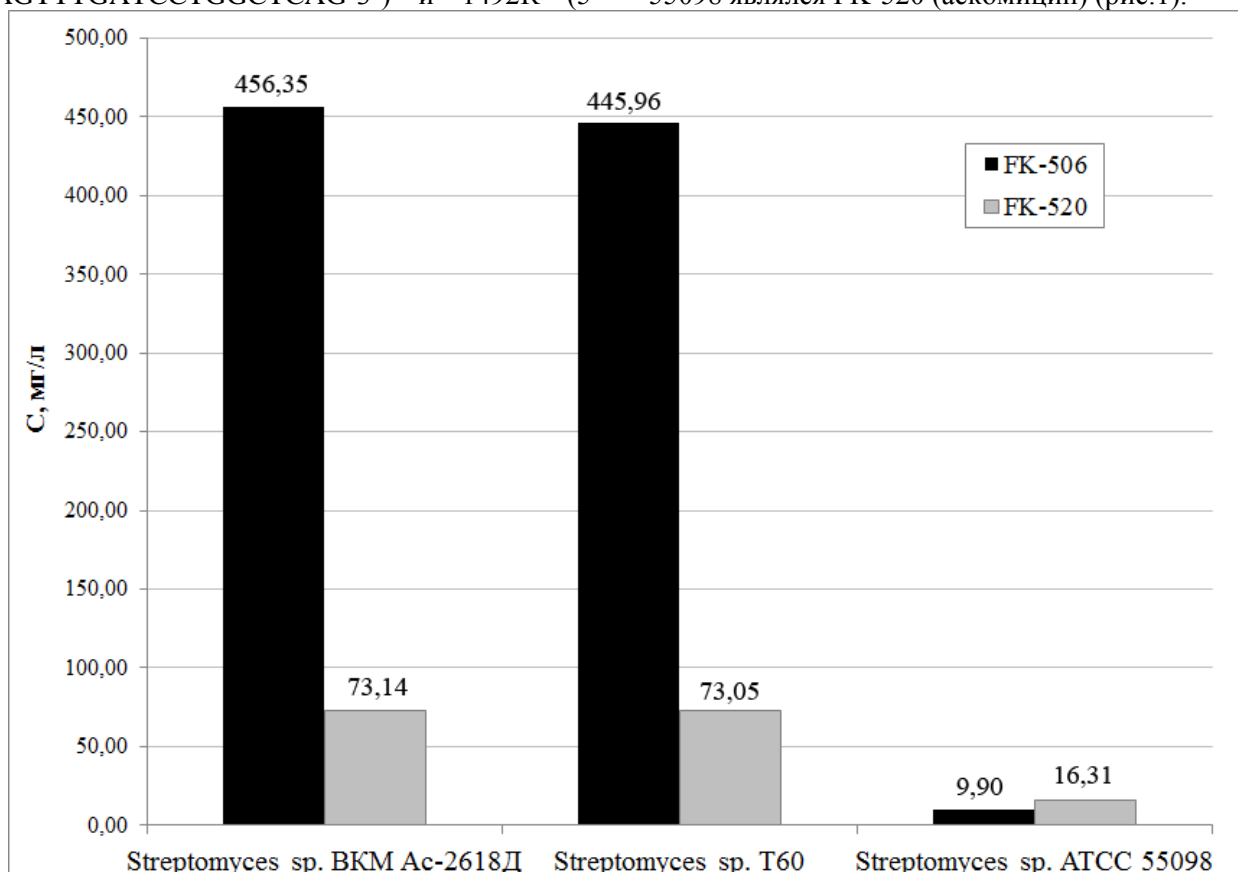


Рисунок 1. Биосинтез макролидов штаммами *Streptomyces* spp.

При росте на однотипных средах штаммы *Streptomyces* sp. Ас-2618Д и *Streptomyces* sp. Т60 различались по размеру и морфологической структуре колоний, по интенсивности спорования; при этом оба синтезировали пигменты идентичной розово-красно-кирпичной цветовой гаммы. Штамм *Streptomyces* sp. ATCC 55098 отличался активным спорообразованием, макроморфологией и буровато-желтоватым цветом колоний, а при росте на мела-

нин-индуцирующих средах (ISP-6, ISP-7) - темно-коричневой пигментацией. Из 49 индивидуальных субстратов тест-системы API-50 CH штамм *Streptomyces* sp. ATCC 55098 утилизирует 31 субстрат, из которых интенсивно – 16, в то время как штаммы *Streptomyces* sp. Ас-2618Д и *Streptomyces* sp. Т60 растут интенсивно на 3 и 6 субстратах и слабо утилизируют 12. Результаты морфофизиологических исследований суммированы в Таблице 1.

Таблица 1

Ряд фенотипических признаков дифференциации *Streptomyces* spp.

Характеристики	Штаммы <i>Streptomyces</i>		
	Ac-2618Д	T60	55098
Спорообразование на среде ISP 3	-	+	+++
Спорообразование на среде ISP 4	++	+++	+++
Спорообразование на среде SP 5	-	+++	+++
Спорообразование на среде МДА	-	++	+++
Утилизация глицерина	+++	+++	++
Утилизация D-рибозы	++	+++	+++
Утилизация D-ксилозы	-	++	++
Утилизация D-галактозы	-	-	++
Утилизация D-глюкозы	+	++	++
Утилизация D-фруктозы	-	-	++
Утилизация D-маннозы	-	-	++
Утилизация N-ацетилглюкозамина	+++	++	++
Утилизация эскулина железа цитрат	-	-	+++
Утилизация D-мальтоза	-	++	-
Утилизация D-раффиноза	-	-	++
Утилизация амилона (крахмал)	-	-	+++
Утилизация калия глюконата	+	-	+++
Утилизация калия 5-кетоглюконата	+	-	++
Активность щелочной фосфатазы	-	+	+
Активность кислой фосфатазы	-	-	+
Активность эстеразы (C4)	+	+	-
Активность лейцин-ариламидазы	+	+	-
Активность α-глюкозидазы	+	+	-
Активность β-глюкозидазы	-	-	+

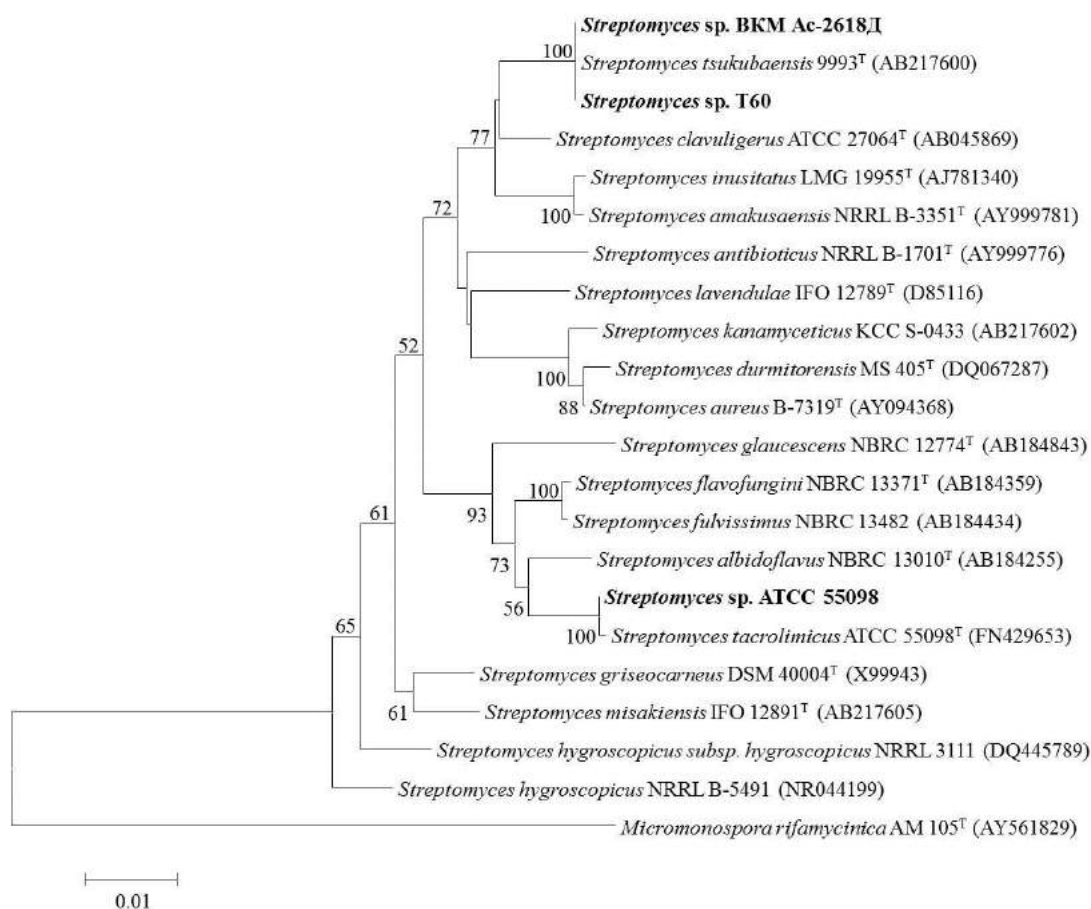


Рисунок 2. Филогенетическое древо штаммов *Streptomyces* на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК; группировка по методу «ближайших соседей». Значения статистической достоверности порядка ветвления – 50% для 1000 альтернативных деревьев Масштаб – одна замена на каждые 100 нуклеотидов.

На основании филогенетического анализа последовательностей гена 16S рРНК установлено 100%-ное сходство последовательностей гена 16S рРНК штаммов *Streptomyces* sp. Ас-2618Д и *Streptomyces* sp. Т60, и их 99,9%-ное сходство с *S. tsukubaensis* 9993^T (АВ217600) (рис.2). Принадлежность штаммов к одному виду подтверждается результатами ДНК/ДНК-гибридизации, так как степень гомологии их ДНК составила более 80%.

Штамм, способный продуцировать такролимус, *Streptomyces* sp. МА6858 исходно находился в Merk Culture Collection, затем на основании гено-, фено- и хемотаксономических свойств была подтверждена его родовая принадлежность и штамм был депонирован в АТСС как *Streptomyces* sp. 55098 [8]. По гену 16S рРНК штамм сходен с *S. fulvissimus* NBRC 13482^T (98,6%) и *S. flavofungini* NBRC 13371^T (98,4%). Однако, низкое родство штаммов по ДНК/ДНК гибридации, (31,5% и 14,5%, соответственно), явилось основанием для выделения *Streptomyces* sp. 55098 в отдельный вид *tacrolimicus* (*Streptomyces tacrolimicus* АТСС 55098^T). Нами штамм был из коллекции получен как *Streptomyces* sp. АТСС 55098 до его реклассификации. Происхождение штамма и установленное нами высокое сходство (99,8%) в последовательности гена 16S рРНК с типовым штаммом (FN429653) позволяет без проведения между ними ДНК/ДНК гибридации идентифицировать его как *S. tacrolimicus*.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени сходства штаммов *Streptomyces* sp. ВКМ Ас-2618Д и *Streptomyces* sp. Т60 и их принадлежности к виду *S. tsukubaensis*. Штамм *Streptomyces* sp. АТСС 55098 идентифицирован как *Streptomyces tacrolimicus* АТСС 55098. Сопоставительный анализ штаммов свидетельствует о преимуществах практического применения штамма *Streptomyces*

tsukubaensis ВКМ Ас-2618Д (ранее – *Streptomyces* sp. ВКМ Ас-2618Д) для производства такролимуса, а также о перспективности применения штамма *Streptomyces tacrolimicus* АТСС 55098 в качестве продуцента аскомицина (FK-520).

Литература:

1. Патент РФ №2495937, 2012.
2. US Patent 5110811, 1992.
3. Shirling E. B., Gottlieb D. 1966. Method for characterization of *Streptomyces* species. Int J Syst Bacteriol. 16: 313-340.
4. Goranovic D., Kosek G., Mrak P., Fujs S., Horvat J., Kuscer E., Kopitar G., Petcovic H. 2010. Origin of the allyl group in FK506 biosynthesis. Biol Chem. 285 (19): 14292-14300.
5. Marmur J. 1961. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. Mol Biol. 3: 208-216.
6. Tamura K., Didley J., Nei M., Kumar S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Mol Biol Evol. 24: 1596-1599.
7. Saitou N., Nei M. 1987. The neighbour-joining method: new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol. 4: 406-425.
8. Martinez-Castro M., Barreiro C., Romero F., Fernandez-Chimeno R. I., Martin J. F. 2011. *Streptomyces tacrolimicus* sp.nov., a low producer of the immunosuppressant tacrolimus (FK506). Int J Syst Evol Microbiol. 61: 1084-1088.

Благодарности.

Авторы благодарят сотрудников ИБФМ РАН – А. А. Шутова, к.б.н. Г. В. Суходольскую, к.б.н. В. В. Фокину за проведение ряда анализов и помощь в работе; ООО «Фарминс» (г. Пушкино Московской области) за предоставление штаммов и финансовую поддержку данного исследования.

НАУЧНЫЙ ФОНД "БИОЛОГ"

Ежемесячный научный журнал

№ 3 / 2014

Сергеев Евгений Викторович - **редактор, к.б.н.** (Россия)
Точинов Василий Игоревич - **помощник редактор** (Россия)

Редакционный совет

- Абдель Маджид Али Амир (Казахстан)
- Бобров Борис Павлович (Украина)
- Волков Станислав Анатольевич (Россия)
- Мушеев Эдуард Вячеславович (Россия)
- Ронжин Дмитрий Владимирович (Россия)
- Хегай Сергей Игоревич (Молдова)
- Чиревко Станислав Владимирович (Казахстан)
- Чен Марина Алексеевна (Россия)
- Бочкарев Артем Сергеевич (Россия)
- Дейнека Наталья Игоревна (Россия)
- Зверев Алексей Юрьевич (Украина)
- Кан Александр Николаевич (Молдова)
- Кидяева Арина Игоревна (Казахстан)
- Коночкин Артем Игоревич (Казахстан)
- Маркеев Анатолий Федорович (Россия)

Художник: Вернандский Д.К.

Верстка: Артемьев З.Л.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций.

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. За достоверность сведений, изложенных
в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением
авторов материалов. При перепечатке ссылка на журнал обязательна. Материалы
публикуются в авторской редакции.

Научный фонд "Биолог"

Адрес: Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046

Адрес электронной почты: office@biologyfond.ru

Адрес веб-сайта: <http://biologyfond.ru/>

Учредитель и издатель Научный фонд "Биолог"

Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046