

Журнал основан в 1918 г.

# **УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ**

**ТАВРИЧЕСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО  
УНИВЕРСИТЕТА им. В. И. ВЕРНАДСКОГО**

*Посвящается 50-летию  
кафедры физиологии человека и животных и биофизики  
Таврического национального университета  
им. В.И. Вернадского  
10-летию Крымской школы Магнитобиологии*

Научный журнал

*Серия “Биология, химия”*

**Том 24 (63). № 2**

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского  
Симферополь, 2011

**Редакционный совет журнала**

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

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

**Члены Совета (редакторы серий и разделов серий):**

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

**Редакционная коллегия серии «Биология, химия»:**

**Раздел «Биология»:**

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

**Раздел «Химия»:**

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

**Печатается по решению Ученого Совета Таврического национального университета  
им. В.И. Вернадского, протокол № 6 от 20.06.2011 г.**

Подписано в печать 30.06.2011 формат 70x100/16  
19,99 усл. п. л. 14,95 уч.-изд. л. Тираж 500. Заказ № 17/а.  
Отпечатано в информационно-издательском отделе ТНУ,  
пр. Вернадского 4, г. Симферополь, 95007

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

Науковий журнал. Том 24 (63), №2, Біологія, хімія.  
Сімферополь, Таврійський національний університет ім. В.І.Вернадського, 2011  
Журнал заснований у 1918 р.  
Адреса редакції: пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007  
Надруковано у інформаційно-видавничьому відділі Таврійського національного університету  
ім. В.І. Вернадського, пр. Вернадського, 4, м. Сімферополь, 95007  
[http://science.crimea.edu/zapiski/zapis\\_god.html](http://science.crimea.edu/zapiski/zapis_god.html)

# ИМЕНА И ДАТЫ

## К 50-ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ И БИОФИЗИКИ ТАВРИЧЕСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМ. В.И. ВЕРНАДСКОГО

---

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

Серия «Биология, химия». Том 24 (63). 2011. № 2. С. 3-21.

**УДК 4777.75**

### ИСТОРИЯ КАФЕДРЫ ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ И БИОФИЗИКИ

*Чуян Е.Н.*

*Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: timur328@gmail.com*

Статья посвящена истории становления, развития кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврического национального университета им. В.И.Вернадского, которая в 2011 году празднует свой 50-летний юбилей.

**Ключевые слова:** Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кафедра физиологии человека и животных и биофизики

За 93 года существования первому ВУЗу в Крыму суждено было пройти очень сложный путь, пережить немало трудностей в годы гражданской, Великой отечественной войн, эвакуации в Дагестан, экономических и политических кризисов, охвативших страну. Однако воплотились в жизнь слова первого ректора Таврического университета Р.И. Гельвига, который сказал, *«что этот университет должен стать Храмом Науки, к которому будет приходить молодежь, чтобы получить свет, идти в жизнь и светить вокруг»*. Это стало возможным потому, что в университете работали и работают настоящие профессионалы своего дела. И кафедра физиологии человека и животных и биофизики является этому достойным примером.

#### **Этап становления кафедры**

Кафедра физиологии человека и животных и биофизики прошла сложный путь становления и развития. В течение ряда десятилетий (1918-1961 гг.) анатомия, физиология и смежные с ними дисциплины находились в структуре учебного процесса кафедры зоологии, на которой был организован кабинет анатомии и физиологии.

В пятидесятые годы на кафедре зоологии читали курсы анатомии кандидат биологических наук, доцент Н.П. Марков, физиологии человека и животных – кандидат биологических наук, доцент Т.Н. Вендиктова, а затем ученик академика

И.С. Бериташвили – доктор медицинских наук, профессор А.М. Волинский. Практические занятия по физиологии человека и животных обеспечивали кандидат биологических наук А.Г. Соловых и преподаватель В.С. Демешева. Научная тематика исследований была связана с изучением условных рефлексов. События этого времени находят более полное описание в истории кафедры зоологии.

В качестве самостоятельного структурного подразделения кафедра анатомии и физиологии человека и животных была образована в 1961 году в составе естественно-географического факультета. В течение 1961-1969 г.г. руководство этой кафедрой осуществлялось кандидатом медицинских наук, доцентом Д.Д. Шелепой.

*«Тогда мы работали в Воронцовском парке, очень хорошее время было. Шелепа Дмитрий Денисович был первым заведующим кафедрой, медик, анатомию читал, великолепный преподаватель, великолепный человек»* - делится воспоминаниями старший лаборант кафедры Любовь Федоровна Иванова. Любовь Федоровна пришла работать на кафедру в 1964 году и до сих пор этот скромный и светлый человек трудиться во благо кафедры.

Новая кафедра обеспечивала преподавание учебных дисциплин: анатомии, физиологии человека и животных, гистологии с основами эмбриологии, физиологии спорта и др. на естественном и географическом факультетах, которые стали самостоятельными единицами в структуре ВУЗа, а также на факультете физического воспитания и курсах медицинских сестер. Курс анатомии читал доцент Д.Д. Шелепа, гистологии и физиологии спорта – доцент Л.В. Гусев, физиологии человека и животных – доцент А.Г. Соловых, медицинскую подготовку вел преподаватель В.С. Демешева. Практические занятия по физиологии человека и животных, анатомии на факультетах естественных наук и физического воспитания осуществляли ассистенты В.Г. Сидякин, В.В. Баранов, Л.Н. Трещева.

В этот период истории кафедры научная работа носила характер поиска актуальной тематики, которая могла бы объединить творческие интересы преподавателей с учётом их базовой специальности.

В связи с реорганизацией пединститута в университет в 1971 году, в деятельности кафедры произошли заметные изменения. С 1969 года вторым заведующим кафедрой анатомии и физиологии человека и животных стала доктор медицинских наук, профессор В.А. Ткачук. Состав коллектива кафедры также претерпел существенные изменения. В конце 60-х, в начале 70-х годов на кафедре работали д.мед.н., проф. В.А. Ткачук, д.б.н., проф. А.М. Сташков, проф. Б.В. Павлов, д.мед.н. В.И. Елкин, д.мед.н. А.М. Ефименко, доц. А.Г. Соловых, доц. В.Н. Коновальчук, преподаватель В.С. Демешева, ассистенты Н.А. Темурьянц, В.Г. Сидякин, В.В. Баранов, Л.Н. Трещева.

С учетом перспектив развития кафедры были приняты меры по подготовке кадров высшей квалификации через целевую аспирантуру на базе ведущих институтов и ВУЗов страны. В аспирантуру были рекомендованы наиболее перспективные выпускники факультета естественных наук и физического воспитания. В связи с этим, за период с 1968-1975 гг. окончили аспирантуру и защитили диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 – физиология человека и животных:

В.Г. Сидякин – в Институте физиологии им. И.П. Павлова АН СССР (научный руководитель – профессор Н.Ф. Суворов);

С.А. Панова – в Ленинградском педиатрическом медицинском институте (научный руководитель – профессор В.И. Елкин),

И.И. Коренюк – в Институте зоологии АН Молдавской ССР (научный руководитель – профессор С.А. Кузнецов),

Л.Д. Лесова – на кафедре анатомии и физиологии человека и животных Симферопольского государственного университета им. М.В. Фрунзе (научный руководитель профессор В.А. Ткачук);

В.В. Баранов – в Институте физиологии им. И.П. Павлова АН СССР (научный руководитель проф. Н.Ф. Суворов).

Кроме того, на базе Института физиологии им. И.П. Павлова АН СССР работала и защитила кандидатскую диссертацию выпускница факультета естественных наук С.И. Баженова. После окончания аспирантуры молодые кандидаты биологических наук в течение 1973-1979 года в разное время прошли конкурс и были избраны преподавателями кафедры.

В эти годы основной состав преподавателей кафедры достиг относительной стабильности. Это касается и учебно-вспомогательного персонала, представленного шестью сотрудниками. В их числе были старшие лаборанты Л.Н. Трещева, Г.С. Губанова, лаборант Л.Ф. Иванова, старший инженер В.Б. Макеев и другие.

С 1973 года на кафедре была открыта специализация по физиологии человека и животных. Одновременно с этим произошли существенные изменения в структуре учебного процесса кафедры: наряду с общими курсами, началось преподавание специальных дисциплин, произошло перераспределение учебных поручений, а в 1976 году состоялась первая защита дипломных работ 11-ти студентов-физиологов.

В данный период становления кафедры были созданы важные предпосылки для дальнейшей целенаправленной научно-исследовательской работы. Профессор В.А. Ткачук совместно с аспирантом, а затем кандидатом биологических наук, ассистентом кафедры Л.Д. Лесовой и старшим лаборантом Г.С. Губановой проводили исследования по актуальным вопросам сравнительной морфологии рецепторного аппарата у человека и различных видов животных, д.мед.н., профессор А.М. Ефименко начал исследования по физиологии мозгового кровообращения; профессор А.М. Сташков – по электрофизиологии головного мозга животных и человека; к.б.н., доц. В.Г. Сидякин – по корково-подкорковым механизмам формирования условных рефлексов; к.мед.н., доцент Н.А. Темурьянц и старший инженер В.Б. Макеев – по вопросам нейрогуморальных реакций животного организма на действие слабых переменных магнитных полей сверхнизкой частоты; к.б.н., ассистент И.И. Коренюк положил начало систематическому изучению нейронных механизмов регуляции двигательной функции животных, а к.б.н., ассистент С.А. Панова начала заниматься вопросами возрастной физиологии человека.

Таким образом, на кафедре к этому времени сформировались различные научные направления, что обусловлено как разной специализацией преподавателей, так и профилем их учебной работы.

В 1975 году избирают на должность заведующего кафедрой профессора А.М. Сташкова (рис. 1). Это приводит к значительным изменениям в учебной, научной и воспитательной работе, а также коренной реконструкции материально-технической базы кафедры.



Рис. 1. Сотрудники кафедры физиологии человека и животных и биофизики (1978г.).  
Примечания: слева направо 1 ряд: Губанова Г.С., Баженова С.И., Янцев А.В., Темурьянц Н.А., Сташков А.М., Панова С.А., Копылов А.М.; 2 ряд: Хитрова Т.В., Евстафьева Е.В., Гоголева О.В., Осовский Ю.В., Михалев Е.А., Михайлов А.В., Ефимова В.М., Ильичев А.В., Ильичева Т.В., Янова Н.П., Федорова В.С., Емельянова В.Г.

*«В 1975 году мне передали кафедру. Что я могу сказать, тогда на кафедре практически ничего не было. Когда я пришел, то стал набирать аспирантов, соискателей и через короткое время кафедра сильно выросла. Моими первыми аспирантами был А.В. Янцев, В.М. Ефимова. Также появился виварий, проводили исследования на животных. Хорошо начала продвигаться работа, посвященная магнитным полям сверхнизкой частоты. Над ней работали И.И. Коренюк, Н.А. Темурьянц, но особенно, конечно, Наталья Арменаковна. И у нас был очень большой успех» - вспоминает А.М. Сташков.*

Действительно, Александр Михайлович внес значительный вклад в развитие научных школ университета, под его руководством сформировалось новое научное направление - «Механизм радиопротекторного действия неионизирующих излучений», результаты исследования которого были опубликованы не только в научных изданиях Украины, но и за рубежом. Под его руководством выполнено 16 кандидатских и 4 докторских диссертации.

*«Во многом кафедра сформировалась во время руководства Сташкова Александр Михайлович, он заслуженный человек, ветеран войны, потрясающе общительный, широкой души человек. Именно благодаря его научным связям, к нам всегда приезжала масса преподавателей из разных ВУЗов и НИИ, которые читали нам лекции, эти научные связи поддерживались и сохранялись долгие годы» - рассказывает доктор биологических наук, профессор В.Б. Павленко.*

Сейчас Александр Михайлович на заслуженном отдыхе, но коллектив кафедры очень ценит его как талантливого ученого, высококвалифицированного преподавателя, организатора и регулярно навещает его, поздравляет с праздниками.

### Этап развития кафедры

Важным событием в истории стало разделение кафедры в 1976 году на два самостоятельных структурных подразделения: кафедру физиологии человека и животных и биофизики (зав. – профессор А.М. Сташков) и кафедру биомеханики и физиологии спорта (зав. – проф. А.М. Ефименко). Первая из них вошла в структуру факультета естественных наук, а вторая – факультета физического воспитания и спорта. В связи с этим, в период 1976-1986 гг. продолжалось формирование коллектива кафедры и структуры учебного процесса. Чтение лекций и проведение практических занятий осуществляли профессор А.М. Сташков, доценты В.Г. Сидякин, Н.А. Темурьянц, И.И. Коренюк, ст. преподаватель Э.Л. Мирошник, ассистенты Л.Д. Лесова, С.А. Панова, В.В. Баранов, В.Б. Макеев, С.И. Баженова, А.В. Янцев, В.Б. Павленко (рис. 1). В последующем в 1979-1986 гг. Э.Л. Мирошник, В.Б. Павленко и В.В. Баранов перешли на работу в другие учреждения.

В течение 1974-1979 гг. были созданы учебные лаборатории по анатомии, гистологии, биологии индивидуального развития, биофизике и биометрии, малому и большому практикуму, а также научно-исследовательские лаборатории, оснащенные современным оборудованием и аппаратурой, в которых выполнялась научная работа по тематике кафедры и проводились практические занятия студентов, подготовка курсовых и дипломных работ (рис. 2).



Рис. 2. Занятия по анатомии ведет ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики Лесова Л.Д.

С 1975 – 1976 гг. на кафедре начались коренные изменения в научно-исследовательской работе преподавателей и студентов. Прежде всего, четко определилась тематика исследований в рамках Координационных планов АН СССР, АН УССР, АМН СССР и МЗ СССР на стыке актуальных проблем и вопросов современной физиологии, биофизики и медицины. В целом исследования проводились по двум основным направлениям, связанным с изучением механизмов биологического действия слабых переменных магнитных полей сверхнизкой частоты (ПеМП СНЧ) и с исследованием нейронных механизмов головного мозга в регуляции моторных функций животного организма.

Эта работа выполнялась усилиями нескольких исследовательских групп, координация научных исследований осуществлялась зав. кафедрой профессором А.М. Сташковым. Начиная с 1975 года, кафедра выполняла научную работу по хоздоговорным темам, которые заключались с Институтом Радиационной физики АН СССР (Москва), с Институтом микроэлектроники АН СССР (Москва), Институтом Медико-биологических проблем АМН СССР и организациями с грифом почтовых ящиков. По инициативе и непосредственном участии кафедры совместно с Институтом физиологии им. И.П. Павлова, Институтом биофизики АН СССР и другими научными учреждениями были организованы две межвузовские научные конференции по проблемам магнитобиологии (1979, 1983 гг.), всесоюзная конференция по биофизическим проблемам биологического действия неионизирующих излучений (Ялта, 1983), два всесоюзных симпозиума по проблеме «Стриарная система и поведение в норме и патологии» (Ялта, 1984, 1988 гг.).

Под руководством доцента В.Г. Сидякина (рис. 3) разрабатывались фундаментальные вопросы по теме «Реакции нервной системы человека и животных на воздействие сверхнизкочастотных электромагнитных полей естественного и искусственного происхождения» с участием к.б.н., в.н.с. Н.П. Яновой, н.с. Е.А. Архангельской, м.н.с. А.В. Кирилловой, аспиранта О.П. Тарасовой и других сотрудников кафедры.



Рис. 3. Проведение экспериментальных исследований под руководством доцента Сидякина В.Г. (1980 г).

В исследованиях, проводимых под руководством профессора А.М. Сташкова и к.б.н., старшего научного сотрудника А.Н. Копылова по теме «Закономерности модифицирующего влияния слабых ПемП СНЧ на радиорезистентность животного организма», участвовали к.б.н., с.н.с. В.М. Ефимова, к.б.н., с.н.с. М.С. Михалев, к.б.н., с.н.с. Ю.В. Осовский, м.н.с. И.Е. Горохов, аспиранты В.С. Мартынюк, В.А. Рассыхина, м.н.с. М. Прокофьева и другие сотрудники кафедры (рис. 4–5).





Рис. 4. Освоение стереотаксической методики студентами и аспирантами Трошиным В.В. и Ефимовой В.М.

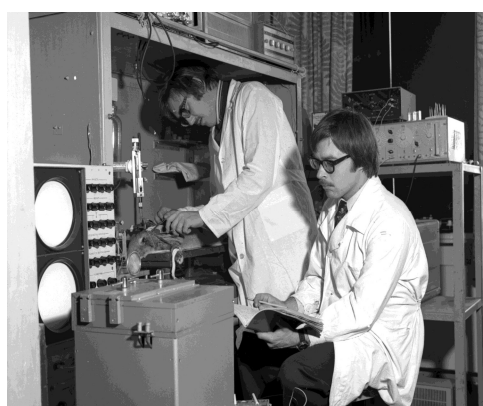


Рис. 5. Освоение методики вживления микроэлектродов в мозг под руководством асс. Янцева А.В. (1980 г).

В 1975 году Иван Иванович Коренюк организовал первую в Крыму лабораторию по исследованию электрической активности нейронов, которую возглавляет и в настоящее время.

Об этом периоде развития кафедры с улыбкой вспоминает Владимир Борисович Павленко: *«Когда я был на третьем курсе, Иван Иванович закончил аспирантуру. Он приехал с новыми идеями, освоив какие-то новые методики. Мы тоже мечтали заниматься биологией отдельных клеток, это вершина физиологии, очень романтично (смеется) и вообще открывает путь к исследованию мышления. Мы стали работать у Ивана Ивановича. Тогда как раз строили корпус, в котором мы сейчас находимся. Я со своими однокурсниками носил песок, которым засыпали вот именно третий этаж, перед тем как положить стяжку и потом линолеум. И когда появился Иван Иванович стали вместе делать лабораторию для изучения нейронной активности. Вплоть до того, что мы сами, начитавшись всякой литературы про радиолампы, транзисторы, делали какие-то усилители. Делали*

также большие железные камеры, в которых можно проводить исследования. Хорошее такое время было, продуктивное, всегда приятно вспомнить».

«Тогда на кафедре была только индукционная катушка, и больше никакой аппаратуры не было. В.Б. Павленко, он тогда был на 3 курсе университета, и еще два человека изъявили желание заниматься нейрофизиологией. И мы за 3 месяца создали электрофизиологическую установку. И с этих пор электрофизиологию преподают в университете» - вспоминает Иван Иванович.

Вот так, собственными руками сотрудников и студентов кафедры создается мощнейшая лаборатория. Подобных лабораторий и сейчас в Украине насчитывается не больше пяти. В период с 1975 по 1995 гг. в лаборатории проводились оригинальные исследования нейронных механизмов афферентной и эфферентной функций теменной ассоциативной области коры мозга (рис. 6). В разработке данной темы участвовали с.н.с., к.б.н. В.Б. Павленко, аспиранты Е.В. Евстафьева, Н.Н. Усаченко, Т.В. Орлова, м.н.с. Т.В. Ильичева и другие сотрудники кафедры.



Рис. 6. Исследование нейронной активности у кошек проводят доцент Коренюк И.И., аспирант Орлова Т.В., студент Когачев В. (1985 г.).

В 1976 году на кафедре была открыта лаборатория физиологии высшей нервной деятельности, в которой изучали изменения условнорефлекторной деятельности животных (в основном лабораторных крыс) при воздействии естественных и искусственных магнитных полей. Руководили исследованиями Н.А. Темурьянц и В.Г. Сидякин, в то время кандидаты биологических наук. Ответственным исполнителем при выполнении работ являлась Н.П. Янова.

Важными событиями для коллектива кафедры ознаменовались 1989 и 1990 годы, когда успешно прошла защита докторских диссертаций доцентом В.Г. Сидякиным, доцентом Н.А. Темурьянц, доцентом И.И. Коренюком.

Под руководством д.б.н., проф. Н.А. Темурьянц изучается комплекс фундаментальных вопросов по теме «Нервные, гуморальные и биофизические механизмы адаптации животного организма к действию неионизирующих излучений» с участием к.б.н., доц. С.И. Баженовой, к.б.н. А.В. Михайлова, к.б.н. В.Б. Макеева, М.Д. Серенко, аспирантов Е.В. Евстафьевой, В.И. Малыгиной, Е.Ю. Грабовской, Е.В. Анойченко, Е.Н. Чуян, Леонеля Сантана Вега и других.

В 1990 году открывается лаборатория электромагнитной физиологии и биофизики, руководителем которой становится доктор биологических наук, профессор Темурьянц Наталия Арменаковна (рис. 7).

Вспоминая, как все начиналось Наталья Арменаковна Темурьянц рассказывает: *«Институт радиотехники Академии наук СССР заказал нам исследование – выявление биологических закономерностей действия магнитных полей, вот тогда и произошел рывок. У нас появились деньги, помещение – вот эта лаборатория - и мы начали выполнять исследования. И пошла настоящая работа, которая стала базисом для нынешних исследований. Все с нуля начинали. Это очень тяжелый путь. Но благодаря этой профессии я встретила единомышленников, и не только ученых, а и замечательных потрясающе образованных людей. Потом у нас появились аспиранты, студенты, дипломники, сформировалось научное направление, появились мировые теоретические разработки, которые подтверждали наши исследования, появились публикации, и наши публикации уже согласовывались с результатами, к примеру, американцев. Мы участвовали во всех симпозиумах, наш авторитет рос и рос, тем более у нас издавались монографии. Первая книга, вышла в 1985 году, называлась «Космическая экология» - она получила серебряную медаль ВДНХ. По тем временам это был ошеломляющий успех. Мы даже и не подозревали об этом, а узнали совершенно случайно. И эта монография получила очень высокую оценку, к примеру, академика Казначеева и других известных людей. У нас был европейский гранд Сортеписис. Кроме того, каждые два года мы проводим Международный семинар «Космос и Биосфера»... Мы многое сделали».*



Рис. 7. Лаборатория электромагнитной физиологии и биофизики 1990 г. На фото во главе стола: Темурьянц Н.А., аспиранты Малыгина Н.А., Грабовская Е.Ю., Евстафьева Е.В. (на переднем плане) и студенты – специализанты кафедры.

Действительно, Наталья Арменаковна является членом европейского и американского биоэлектромагнитных обществ, регулярно печатается в известных научных журналах. Школа электромагнитной физиологии и биофизики внесла

значительный вклад в развитие биофизических и физиологических исследований в Украине. Авторитет этой школы признан мировым научным сообществом. Свидетельством тому являются публикации в престижных изданиях, монографии, награжденные престижными премиями (госпремия АРК, премии им. В.И. Вернадского ТНУ) патенты на изобретения Украины и России, десятки защищенных кандидатских и 5 докторских (Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Чуян Е.Н., Мартынюк В.С.) диссертаций. Несомненно, каждый понимает, что все это благодаря усердной и кропотливой работе талантливых ученых нашего университета.

С 1991 по 2005 год кафедрой руководил доктор биологических наук, академик АПН Украины, профессор В.Г. Сидякин.

В этот период времени окончательно сформировались и развивались три самостоятельных направления научных исследований и соответственно три научных лаборатории кафедры.

С 1995 года исследования старейшей лаборатории кафедры – лаборатории исследований нейронной активности были переориентированы на изучение тончайших процессов в нейронах и их мембранах – внутриклеточных электрических потенциалов, протекающих в интактных и изолированных нейронах ганглиев мозга виноградной улитки. Целью этих исследований является выяснение механизмов возникновения пейсмекерной активности, организации синаптических связей нейронов, выявление нейронных механизмов действия, как эталонных лекарственных средств, так и новосинтезированных химических веществ в обычных терапевтических и сверхмалых концентрациях. Наряду с этим, в лаборатории с 2003 года под руководством профессора И.И. Коренюка были освоены новые нейроэтологические, поведенческие системные методы исследования на крысах, что позволило изучать нейротропные, психотропные, противоболевые, противовоспалительные и другие эффекты тестированных соединений. Большой заслугой И.И. Коренюка является то, что он сумел привлечь к совместной работе сотрудников, аспирантов и студентов кафедр органической и неорганической химии, которые не только синтезируют новые соединения, но уже самостоятельно начали оценивать их биологические эффекты. В настоящее время в лаборатории испытано более 50-ти соединений в отношении наличия у них нейротропной и психотропной активности, направленности, порога, оптимальных и токсических концентраций/доз. Эти исследования имеют большое фундаментальное и практическое значение для нейробиологии, нейрофармакологии, клинической медицины, биохимии, синтеза новых с заданными свойствами соединений, перспективных лекарственных препаратов.

Широкий фронт исследований обусловил разработку и внедрение в научные исследования двух компьютерных программ для регистрации, обработки и автоматизированного анализа биоэлектрических сигналов, и одной полезной модели. За эти разработки лаборатория получила три авторских свидетельства на изобретение и десять патентов. В лаборатории защищена 1 докторская и 12 кандидатских диссертаций.

На базе лаборатории электромагнитной физиологии и биофизики (руководитель проф. Н.А. Темурьянц) была изучена зависимость биологической активности ПемП СНЧ от индивидуальных особенностей животных (Е.Ю. Грабовская, В.А. Минко,

Е.И. Нагаева), описаны изменения биологической ритмики под влиянием этого фактора (В.С. Мартынюк, А.В. Шехоткин, И.Б. Камынина, В.А. Насилевич). Важным этапом этих исследований явилось исследование роли эпифиза в механизмах физиологического действия ПемП СНЧ (А.В. Шехоткин), исследования взаимосвязи биологической ритмики с ритмикой гелиокосмических факторов (В.С. Мартынюк, П.А. Григорьев) влияние гелиогеофизических факторов на физико-химические (Ю. Цейлер, П. Калиновский), клеточные (Р. Абу Хадда) и социальные системы (Б.М. Владимирский).

Параллельно с исследованиями биологического действия ПемП СНЧ в конце 80-х годов начались исследования биоэффектов низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ). Е.Н. Чуян впервые исследовала зависимость этих эффектов от индивидуальных свойств животных, описала их способность ограничивать развитие стресс-реакции на гипокинезию. В дальнейшем были изучены реакции ЦНС на действие ЭМИ КВЧ (О. Тарасова, В.П. Пономарева), зависимость его действия от параметров излучения (О.В. Хомякова), его влияние на биологическую ритмику (О.Б. Московчук), на неспецифическую резистентность (Н.П. Верко), симпатoadреналовую систему (А.В. Чирский). Нейроиммуноэндокринные механизмы действия ЭМП КВЧ подробно исследованы Е.Н. Чуян, роль стресс-лимитирующих систем в механизмах действия ЭМИ КВЧ показана в работах М.М. Махониной, Э.Р. Джелдубаевой (рис. 8).



Рис. 8. Проведение исследований биоэффектов низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты.

Совокупность описанных работ позволила говорить о Крымской школе электромагнитной биологии, изучающей эффекты слабых электромагнитных воздействий. Авторитет этой школы признан мировым научным сообществом.

Третье научное направление кафедры – психонейрофизиология – является преемником направления исследований высшей нервной деятельности, которое возглавлял академик АПН Украины В.Г. Сидякин (рис. 9).

В начале 90-х годов механизмы воздействия низкочастотных магнитных полей и электромагнитных излучений миллиметрового диапазона потребовалось изучить

сразу на нескольких уровнях: от отдельных нейронов головного мозга бодрствующих животных до элементов поведения. В работу включились нейрофизиологи – кандидаты биологических наук Орлова Т.В. и Павленко В.Б. Объектом исследований стали нейронная активность, электроэнцефалограмма и двигательные реакции бодрствующих животных (главным образом кошек). В лаборатории были разработаны новые, мирового уровня методики анализа нейрофизиологических механизмов поведения, созданы уникальные компьютерные программы и оборудование, позволяющие изучать биопотенциалы головного мозга животных и человека в процессе выполнения ими сложных поведенческих задач. Лаборатория стала одной из немногих в Украине и единственной в Крыму, способной в хронических опытах регистрировать и анализировать активность одиночных нейронов коры и подкорковых структур мозга бодрствующих свободноподвижных животных, а также изменения ЭЭГ, сопровождающие целенаправленную деятельность человека.



Рис. 9. Сотрудники лаборатории психонейрофизиологии (1990 г.).

Примечания: Слева направо 1 ряд: Чемоданова Е.В., Орлова Т.В., Кириллова А.В.; 2 ряд: Доровлев И.С., Шумилина К.В, Павленко В.Б., Куличенко А.М., Янова Н.П., Сидякин В.Г.

В начале нового века, в связи с новым кругом рассматриваемых проблем, лабораторию стали называть лабораторией нейроэтологии. С 2005 года коллектив возглавляет доктор биологических наук, профессор Павленко В.Б.

В настоящее время основным направлением работы лаборатории является изучение нейро- и психофизиологических механизмов формирования личности человека, коррекция неблагоприятных психофизиологических состояний с помощью биологической обратной связи по электроэнцефалограмме (нейрофидбэк), анализ нейронных механизмов формирования индивидуального паттерна биопотенциалов головного мозга. За последние 10 лет сотрудниками лаборатории были защищены 12 кандидатских и одна докторская диссертации. Под руководством кандидатов биологических наук Куличенко А.М., Луцюка Н.В., Макаричевой А.В., Махина С.В., Фокиной Ю.О., Черного С.В., Эйсмонт Е.В. в

лаборатории выполнены десятки дипломных работ выпускников биологического и психологического факультетов.

В последние годы лаборатория реализует проект, направленный на изучение механизмов негативных изменений эмоциональных и высших когнитивных функций в их взаимосвязи у детей и взрослых, разработку новых методов диагностики и коррекции указанных функций человека с применением цветовой и звуковой стимуляции с обратной связью по ЭЭГ на основе портативного автоматизированного комплекса и оригинальных компьютерных программ.

*«Сейчас мы занимаемся в основном тем, что обучаем людей управлять ритмами своего мозга, ритмами энцефалограммы, при этом проходит эксперимент таким образом: вот если мы работаем с ребенком (рис. 10), то перед ним на экране компьютера какая-то компьютерная игра и он, не касаясь клавиатуры, меняя активность своего мозга, управляет этой игрой. Например, ребенок выбирает зверька или букашку, которые соревнуются между собой в скорости, в перетягивании каната и т.д. Если ребенок сконцентрируется — то его персонаж выиграет. Таким образом, мы учим человека лучше использовать ресурсы своего мозга. Вот такими интересными направлениями занимается наша лаборатория»* - рассказывает В.Б. Павленко.



Рис. 10. Электрэнцефалографические исследования у детей.

#### **Современный этап в жизни кафедры**

С 2005 года кафедру возглавляет доктор биологических наук, профессор Е.Н. Чуян. Это ознаменовалось началом значительных изменений в учебной, учебно-методической, научной и воспитательной работе, а также коренной реконструкции материально-технической базы кафедры.

Е.Н. Чуян в 2004 году защитила докторскую диссертацию, является автором свыше 300 научных публикаций, патентов, учебных пособий, в том числе 4 монографий, под её руководством защищено 10 кандидатских диссертаций. Заместитель председателя специализированного ученого совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - "Физиология человека и животных", член редколлегии журналов "Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского" и "Геополитика и экогеодинамика регионов", член Президиума Крымского научного центра НАНУ и



МОНУ, Украинского биофизического и Украинского физиологического обществ, Украинского общества клеточной физиологии. В 2006 году награждена премией им. В.И. Вернадского «За вклад в научные исследования в области электромагнитной биологии». В 2008 г. награждена премией Верховного Совета АРК.

Кадровый состав кафедры является одним из лучших не только на факультете, но и в университете – на кафедре работают 4 доктора биологических наук, профессора (Е.Н. Чуян, Н.А. Темуриянц, И.И. Коренюк, В.Б. Павленко), 11 кандидатов наук, из них 6 доцентов (С.А. Панова, А.В. Кириллова, А.В. Янцев, М.Ю. Раваева, Д.Р. Хусаинов, Э.Р. Джелдубаева, Т.В. Гамма), старший преподаватель, к.б.н. Заячникова Т.В., ассистенты к.б.н. Фокина Ю.О., к.б.н. Трибрат Н.С., к.б.н. Бирюкова Е.А., Костюк А.С. (рис. 11). В повседневном организационном и материально-техническом обеспечении учебного процесса и научной работы студентов и преподавателей активно участвуют зав. лабораторией Г.С. Губанова, ведущий специалист Л.А. Рыбникова, зав. виварием О.А. Гоголева, лаборант Л.Ф. Иванова. Большой стаж работы и высокий уровень их квалификации оказывают положительное влияние на состояние учебного процесса.



Рис. 11. Сотрудники кафедры физиологии человека и животных и биофизики.

Примечания: Слева направо 1 ряд: Губанова Г.С., Кириллова А.В., Гоголева О.А., Темуриянц Н.А., Гамма Т.В., Коренюк И.И.; 2 ряд: Ефимова В.М., Павленко В.Б., Панова С.А., Махонина М.С., Джелдубаева Э.Р., Янцев А.В., Хусаинов Д.Р.

Кафедра физиологии человека и животных и биофизики готовит биологов, специализирующихся по физиологии человека и животных образовательных квалификационных уровней: бакалавр, специалист, магистр. С 2002 года осуществляется набор студентов по специальности «Биофизика», направления подготовки 0704 «Биология» образовательных квалификационных уровней: бакалавр (4 года), специалист (1 год), магистр (1 год) (рис. 12).

За годы существования кафедры созданы все необходимые условия для подготовки специалистов и магистров. Это традиционно высокий уровень преподавания учебных дисциплин, наличие лабораторно-экспериментальной базы и специалистов, которые владеют современными методами физиологических и биофизических исследований, математической статистики, компьютерного



моделирования в биологии, диагностики и коррекции функционального состояния человека и животных. За последние десять лет кафедра выпустила более 300 специалистов и магистров, многие из них защитили кандидатские диссертации и работают в ТНУ, других ВУЗах и НИИ Украины, другие стали прекрасными учителями.



Рис. 12. Первый выпуск магистров-биофизиков с ректором Багровым Н.В. (2007 г.).

При кафедре функционирует виварий (заведующая О.А. Гоголева), в котором содержатся лабораторные животные для проведения учебных и научных экспериментальных исследований.

В 2007 году под руководством Е.Н. Чуян создан Центр коррекции функционального состояния человека, основными задачами которого являются проведение научно-исследовательской, учебной, просветительской и оздоровительной работы по диагностике и коррекции функционального состояния человека. В Центре коррекции функционального состояния человека проводится научная работа по теме «Механизмы биологического действия факторов разной природы и интенсивности на функциональное состояние организма человека». Эта тема является логическим продолжением исследований, проводимых на кафедре, напрямую связана с электромагнитной биологией и биофизикой. На сегодняшний день Центр является научной базой для проведения фундаментальных и прикладных исследований и разработок по приоритетному направлению «Здоровье человека», направленных на изучение физиологических и биофизических механизмов биологического действия факторов разной природы и интенсивности на функциональное состояние организма человека. За три года существования Центра защищены две кандидатские диссертации (Н.С. Трибрат, Е.А. Бирюкова).

Создание Центра способствует расширению учебной и материально-технической базы для подготовки магистров и специалистов, специализирующихся по физиологии человека и животных, биофизике (проведение практических занятий и учебной практики) (рис. 13).

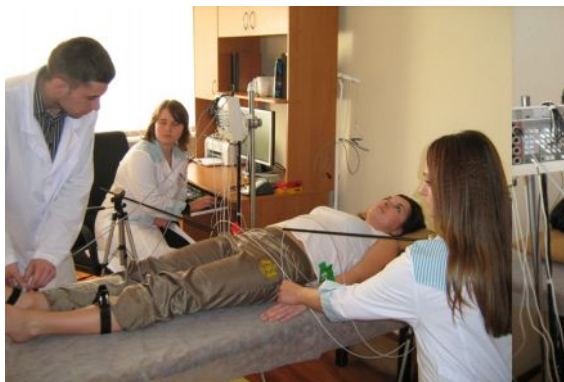


Рис. 13. Студенты биологического факультета на практическом занятии по инструментальным методам исследования в физиологии.

Оздоровительная работа Центра складывается из широкого диапазона современных диагностических и физиотерапевтических методов, что позволяет эффективно контролировать динамику изменений физиологического состояния организма, выявлять начало патологического процесса практически всех органов и систем организма и в дальнейшем проводить адекватную коррекцию функционального состояния организма.

В 2007 году в ТНУ осуществлен первый набор студентов на специализацию по медицинской биофизике направлению подготовки "Биология" (рис. 14). Прием абитуриентов осуществляется только из числа лиц, имеющих базовое медицинское образование (младший специалист). Это актуально для Крымского региона в целом, поскольку создание лечебно-диагностических, оздоровительных и реабилитационных центров, профилакториев требует подготовки квалифицированных специалистов, умеющих работать на современном диагностическом и физиотерапевтическом оборудовании. Данная специализация пользуется большим спросом среди абитуриентов, в связи с чем, поступление на нее осуществляется на конкурсной основе. Практические занятия и производственная практика по спецкурсам: "Эффекты слабых воздействий", "Нейрофизиология", "Медицинская биофизика", "Биоэлектрические процессы в сердце", "Кардиография", "Электрофизиология", "Диагностика функциональных состояний и методы их коррекции", "Автоматизированные измерения в биофизике", "Патофизиология", "Основы функциональной диагностики", "Современное медицинское оборудование", "Физиотерапия" и т.д. проводятся на базе Центра коррекции функционального состояния человека.

В настоящее время на кафедре проводится подготовительная работа к лицензированию специальности 8.04010212 «Физиология человека и животных» образовательно-квалификационного уровня «магистр». На протяжении последних десятилетий на нашей кафедре созданы научные школы, разработана уникальная аппаратура и методы исследования, которые могут успешно использоваться для подготовки высококвалифицированных дипломированных «магистров-физиологов».



Рис. 14. Первый выпуск бакалавров-биологов, специализирующихся по направлению «медицинская биофизика» (2010 г.).

С 2009 г. кафедра физиологии человека и животных и биофизики Таврического национального университета им. В.И. Вернадского сотрудничает с международной организацией «InterNICHE». Такое сотрудничество обеспечивает практическую поддержку и помощь преподавателям в замене экспериментов на животных комплексом альтернативных методов. Так, если ранее студенты на практических занятиях были вынуждены выполнять диссекцию (анатомирование трупа животного) и вивисекцию (экспериментирование на живом животном), то сейчас появилась возможность замены подобных экспериментов использованием компьютерных моделей. Использование альтернативных методов обучения дает возможность унифицировать учебные программы по ряду дисциплин под общий европейский стандарт, исключив при этом негуманное использование животных в биологических экспериментах.

В феврале 2011 г. на кафедре открыт компьютерный класс в рамках проекта Электронной интернационализации образования для совместного обучения (EICL – Internationalization for Collaborative Learning) (рис. 15). Этот проект является образовательной программой Европейского Союза, которая поддерживает модернизацию системы высшего образования и создает пространство для сотрудничества в странах-партнерах через университетские проекты. Внедрение альтернативных методов обучения явилось предпосылкой к тому, что в июне 2011 г. Таврический национальный университет признан самым гуманным вузом Украины.



Рис. 15. Открытие компьютерного класса в рамках проекта Электронной интернационализации образования для совместного обучения (2011 г.).

На кафедре всегда большое количество аспирантов, которые успешно защищают кандидатские диссертации. Работает старейший в университете специализированный ученый совет по защите кандидатских диссертаций по специальности «Физиология человека и животных», первое заседание которого состоялось еще в 1976 г. под председательством профессора А.М. Сташкова (ученый секретарь к.б.н. Н.А. Темурьянц). В настоящее время спецсовет, возглавляемый проф. Н.А. Темурьянц (ученый секретарь – к.б.н. Д.Р. Хусаинов), признан самым эффективным в ТНУ.

В настоящее время на кафедре ведется большая научная работа. Свидетельством тому являются публикации в престижных изданиях, высокий Impact Index, монографии, награжденные престижными премиями (госпремия АРК, премии им. В.И. Вернадского ТНУ) патенты на изобретения Украины и России, десятки защищенных кандидатских и докторских диссертаций, участие в Международных проектах, многочисленные конференции и симпозиумы при участии наших ученых. В частности, с 1995 г. в Крыму регулярно проводятся международные конференции «Космос и биосфера» (рис. 16), в работе которых принимают участие ученые Украины, России, Италии, США и других стран. Сотрудники кафедры являются членами многих международных научных обществ (Европейское и Американское биоэлектромагнитные общества, Международное биометеорологическое общество, Международный союз по исследованию малоизученных факторов среды, физиологическое и биофизическое общества Украины и др.). Многочисленные ученики работают в различных научных учреждениях Украины, ближнем и дальнем зарубежье. Кафедра имеет тесные научные контакты с многочисленными научно-исследовательскими институтами: Институтом космических исследований РАН, Институтом биофизики РАН, Институтом физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ, Киевским национальным университетом им. Т.Г. Шевченко, Московским государственным университетом, Санкт-Петербургским университетом, Институтом нейрофизиологии РАН и т.д.



Рис. 16. Участники конференции «Космос и биосфера», Крым, Партенит, 2005 г.

Кафедра физиологии человека и животных и биофизики на протяжении нескольких лет занимает одно из первых мест по рейтингу научных исследований ТНУ им. В.И. Вернадского.

Коллектив кафедры является очень дружным и сплоченным, что и определяет эффективность работы кафедры. *«Я вам так скажу, когда люди работают над*

какой-то проблемой, и всегда чем-то заняты, когда у людей есть общая идея, то у них не остается времени на какие-то трения и распри» - рассуждает кандидат биологических наук, старший преподаватель, заместитель декана по учебной работе Гамма Т.В. Действительно, нам комфортно работать друг с другом, мы понимаем друг друга, мы поддерживаем друг друга в какие-то трудные минуты. И самое главное – нам приятно оставаться после работы вместе, отмечать праздники, дни рождения. Нам комфортно просто общаться.

Ну и, конечно же, кафедра имеет свои сложившиеся традиции, которые знают и чтят наши молодые сотрудники. *«Мы традиционно выпускаем в конце учебного года лягушку из вивария на волю, наряжаем ее, и по красной дорожке отпускаем восвояси. В конце учебного года торжественно сжигаем расписание, обязательно с шашлыками, и с чистой совестью идем на отдых. Мы интересно проводим посвящение в студенты физиологии и биофизики - это обязательная процедура, это один из ярких праздников нашей кафедры, когда мы вместе со студентами, а не просто преподаватели и студенты, когда студенты вносят какую-то новую, свежую струю, а мы, конечно, учимся у них современным взглядам на жизнь, но учим и их, учим трепетному отношению к традициям, к истокам, к учителям»* - рассказывает к.б.н., доцент Раваева М.Ю.

В этом году кафедра физиологии человека и животных празднует свое 50-летие. За это время кафедра прошла сложный путь своего становления и развития. Менялись руководители, менялся профессорско-преподавательский состав, но сегодня наш университет может гордиться нашей кафедрой, высококвалифицированными и талантливыми преподавателями и учеными. Один из первых руководителей кафедры профессор Александр Михайлович Сташков сказал в канун юбилея: «Я рад, что на кафедре сложился хороший коллектив. Мы всегда были дружны, помогали друг другу – я желаю, чтобы вы это сохранили. Также хочу пожелать, чтобы кафедра двигалась дальше, чтобы все хорошо работали, и чтобы ваши заслуги были признанными».

**Чуян О.М.** Історія кафедри фізіології людини і тварин і біофізики / О.М. Чуян // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 3-21.

Стаття присвячена історії становлення, розвитку кафедри фізіології людини і тварин і біофізики Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського, яка в 2011 році святкує свій 50-річний ювілей.

**Ключові слова:** Таврійський національний університет ім. В.І. Вернадського, кафедра фізіології людини і тварин і біофізики.

**Chuyan E.N.** History of the department of physiology and animal rights and biophysics / E.N. Chuyan // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 3-21.

Article is devoted to the history of development, development of the department of human physiology and biophysics and animals Tauride National University. V.I Vernadsky, which in 2011 celebrates its 50th anniversary.

**Keywords:** Taurian National University. V.I Vernadsky, Department of Human and Animal Physiology and Biophysics.

*Поступила в редакцію 17.06.2011 г.*

**УДК 4777.75**

## **КРЫМСКАЯ ШКОЛА МАГНИТОБИОЛОГИИ**

*Темурьянц Н.А.*

*Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: timur328@gmail.com*

Представлены сведения о магнитобиологических исследованиях, проводимых на кафедре физиологии человека и животных и биофизики Таврического национального университета им. В.И. Вернадского за последние 50 лет. Эти исследования касаются изучения биологического действия низкоинтенсивных электромагнитных полей сверхнизких и сверхвысоких частот, биоритмики.

**Ключевые слова:** низкоинтенсивные электромагнитные поля сверхнизких и сверхвысоких частот, биоритмика, кафедра физиологии человека и животных и биофизики.

В 2011 году исполняется 50 лет со дня основания кафедры физиологии человека и животных и биофизики, а также 40 лет исследованиям биологического действия электромагнитных факторов. Необходимость таких исследований возникла в связи с развитием в конце 60-х годов идеи А.Л. Чижевского о влиянии солнца и космического окружения на процессы, протекающие в биосфере, литосфере, тропосфере и т.д. Эти идеи были изложены в знаменитой монографии «Земное эхо солнечных бурь».

Солнечно-земные связи были обнаружены при многочисленных сопоставлениях разнообразных процессов, протекающих на Солнце и Земле. Однако не были известны ни факторы, ответственные за эти связи, ни механизмы их реализации. Сотрудник Крымской Астрофизической обсерватории АН СССР кан. физ.-мат. наук Б.М. Владимирский предположил, что фактором может быть переменное магнитное поле (ПеМП) сверхнизких низких частот (СНЧ), интенсивность которого наиболее высока по сравнению с интенсивностью поля других частотных полос как в спокойные периоды, так и особенно во время геомагнитных возмущений, когда его интенсивность может возрасть в 10-100 раз.

Для подтверждения этого предположения необходимо было проведение экспериментов с моделированием магнитных бурь.

В это время были уже накоплены достоверные экспериментальные данные о высокой чувствительности биологических систем различных уровней организации к действию электромагнитных факторов, были выявлены некоторые закономерности их действия. Однако эти данные были получены при значительных интенсивностях ПеМП, что подтверждало представления о том, что биологические эффекты возможны лишь при нагреве тканей.

Для доказательства предположения Б.М. Владимирского нужно было исследовать биологическое действие ПеМП очень малой интенсивности, не вызывающего тепловых эффектов. Сама возможность биологического действия

таких полей ставилась под сомнение. Поэтому перед исследователями стояла очень сложная задача, решение которой требовало тщательного отбора методов и объектов исследований, разработки дублирующих контрольных экспериментов, проверки воспроизводимости результатов исследования и т.д.

Эти исследования на первом этапе были проведены под руководством профессора А.М. Вольнского в Крымском медицинском институте.

Уже первые результаты были обнадеживающие, были выявлены изменения функциональной активности нейтрофилов крови кроликов и собак под влиянием слабых ПемП СНЧ (Н.А. Темурьянц), перестройки деятельности сердечно-сосудистой системы животных (А.Я. Чегодарь), обнаружено их влияние на бактерии (Ю.Н. Ачкасова). Эти результаты вызвали многочисленные дискуссии, так как эффективность столь слабых полей в те годы считалось совершенно не возможной.

Первые результаты этих исследований были доложены в 1969 г. на I Всесоюзном симпозиуме «Солнце-биосфера» в г. Вильнюсе и получили высокую оценку акад. В.В. Парина.

В 1971 году центр исследований переместился в Симферопольский государственный университет им. М.В. Фрунзе, куда перешли работать Н.А. Темурьянц и В.Б. Макеев. К экспериментам подключились проф. А.М. Сташков, доц. В.Г. Сидякин, студенты факультета естественных наук В.Б. Павленко, И. Хандожко, Е.В. Мешкова (Е.В. Евстафьева) и др. В результате этих исследований была определена зависимость биологической эффективности слабых ЭМП от частоты в диапазоне 0,01-100 Гц, описана «амплитудные» окна на каждой частоте (Макеев В.Б.)

Важное значение для доказательства биологической активности столь слабых раздражителей имели исследования комбинированного действия ЭМП с другими факторами. Так, Е.В. Евстафьева, А.В. Михайлов, В.И. Малыгина под руководством Н.А. Темурьянц показали способность ПемП СНЧ ограничивать развитие стресс-реакции на ограничение подвижности. А.Н. Копылов, И. Горохов под руководством проф. А.М. Сташкова обнаружили радиопротекторные действия этого раздражителя.

В 1985 году в издательстве Наукова Думка (Киев) вышла первая монография (Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Макеев В.Б., Владимирский Б.М. «Космическая экология») в которой были не только обобщены полученные результаты, но и сформулированы задачи будущих исследований. Эта работа была удостоена серебряной медали ВДНХ СССР.

В дальнейшем была изучена зависимость биологической активности ПемП СНЧ от индивидуальных особенностей животных (Е.Ю. Грабовская, В.А. Минко, Е.И. Нагаева), описаны изменения биологической ритмики под влиянием этого фактора (В.С. Мартынюк, А.В. Шехоткин, И.Б. Камынина, В.А. Насилевич). Важным этапом этих исследований явилось исследование роли эпифиза в механизмах физиологического действия ПемП СНЧ (А.В. Шехоткин), исследования взаимосвязи биологической ритмики с ритмикой гелиокосмических факторов (П.А. Григорьев, В.С. Мартынюк) влияние гелиогеофизических факторов на физико-химические (Ю.Цейлер, П.Калиновский), клеточные (Р. Абу Хадда) и социальные системы (Б.М. Владимирский). Была изучена роль ЦНС в механизмах физиологического действия ПемП СНЧ (В.Г. Сидякин, Н.П. Янова, Е.В. Архангельская, А.В. Кириллова,



К. Шумилина, М. Чемоданова). Обширные исследования на различных уровнях организации биологических систем выполнена В.С. Мартынюком.

В 1990 году на кафедре была открыта лаборатория электромагнитной физиологии и биофизики (руководитель проф. Н.А. Темурьянц), что позволило значительно расширить эти исследования.

Параллельно с исследованиями биологического действия ПемП СНЧ в конце 80-х годов начались исследования биоэффектов электромагнитное излучение (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ). Е.Н. Чуян впервые исследовала зависимость этих эффектов от индивидуальных свойств животных, описала их способность ограничивать развитие стресс-реакции на гипокинезию. В дальнейшем были изучены реакции ЦНС по действию ЭМИ КВЧ (О. Тарасова, В.П. Пономарева), зависимость его действия от параметров излучения (О.В. Хомякова), его влияние на биологическую ритмику (О.Б. Московчук), на неспецифическую резистентность (Н.П. Верко), симпатoadреналовую систему (Н.В. Чирский), Нейроиммуноэндокринные механизмы действия ЭМП КВЧ подробно исследованы в докторской диссертации Е.Н. Чуян, роль опиоидной системы в механизмах действия ЭМИ КВЧ показана в работах М.М. Махониной, Э.Р. Джелдубаевой.

Совокупность описанных работ позволило говорить о Крымской школе электромагнитной биологии, изучающей эффекты слабых электромагнитных воздействий.

Авторитет этой школы признан мировым научным сообществом. Свидетельством тому являются публикации в престижных изданиях, имеющих высокий Impact Index, монографии, награжденные престижными премиями (Госпремии АРК, премии им. В.И. Вернадского ТНУ), Европейского фонда Бенгвинента патенты на изобретения Украины и России, десятки защищенных кандидатских и 5 докторских (Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Чуян Е.Н., Мартынюк В.С.) диссертаций, участие в Международных проектах (Copenicus), гранты на исследования (Соровские гранты, МОНУ), заказы на хоздоговорные исследования, многочисленные конференции и симпозиумы при участии крымских ученых. С 1995 г. в Крыму регулярно проводятся международные семинары «Космос и биосфера», в работе которых принимают участие не только ученые Украины, но и России, Италии, США и т.д., неоднократно проводились конференции различного уровня по данной проблеме. Сотрудники кафедры являются членами многих международных научных обществ (Европейское и Американское биоэлектромагнитные общества, Международное биометеорологическое общество, Международный союз по исследованию малоизученных факторов среды, физиологическое и биофизическое общества Украины и др.). Многочисленные ученики работают в различных научных учреждениях Украины, ближнем и дальнем зарубежье.

Например, наши ученики – это зав. кафедрой нормальной физиологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского – профессор, д.м.н. Е.В. Естафьева, зав. кафедрой медико-биологических основ физической культуры ТНУ им. В.И. Вернадского – доцент, к.б.н. Е.Ю. Грабовская, зав. кафедрой биофизики Киевского национального университета им. Т.Г. Шевченко – д.б.н., профессор В.С. Мартынюк.

Лаборатория и кафедра имеет тесные научные контакты с многочисленными научно-исследовательскими институтами: Институтом космических исследований



РАН, Институтом земного магнетизма и распространением радиоволн РАН, Институтом биофизики РАН, Институтом физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ, Киевским национальным университетом им. Т.Г. Шевченко, Московским государственным университетом, им. М.В. Ломоносова Санкт-Петербургским университетом, Институтом нейрофизиологии и высшей нервной деятельности РАН, медико-биологической ассоциацией МТА-КВЧ (Москва) т.д.

Учитывая высокий уровень проводимых исследований в 2002 году на кафедре открыта новая специальность – Биофизика, специализация «Медицинская биофизика». В 2004 году открыт специализированный Совет по защите кандидатских диссертаций по специальности «Биофизика» и «Физиология человека и животных». Из 8 человек, окончивших университет по специальности «Биофизика» в 2007 г., 6 уже стали кандидатами наук, все выпускники работают по специальности.

В настоящее время исследования электромагнитных воздействий ведутся на новом методическом уровне. Учитывая высокую терапевтическую активность ЭМИ КВЧ под руководством проф. Е.Н. Чуян изучаются механизмы его действия на базе отдельного подразделения кафедры – Центра коррекции функционального состояния, созданного в 2007 году. Начаты исследования эффектов ослабленных магнитных полей, возникающих при экранировании. Появились новые объекты исследования – беспозвоночные (моллюски, планарии), новые методы исследования, компьютерные технологии и т.д.

Нет сомнения в том, что в ближайшее время будут получены новые результаты, которые внесут вклад в дальнейшее развитие биофизических исследований в Таврическом национальном университете. Гарантацией этого являются многочисленные ученики, успешно продолжающие биофизическое исследования.

**Список диссертаций, защищенных сотрудниками кафедры физиологии человека и животных и биофизики по данной проблематике**

**Монографии**

1. Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Макеев В.Б., Владимирский Б.М. Космическая экология -Киев: Наук.думка, 1985. - 150 с.
2. Владимирский Б.М., Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А., Макеев В.Б., Самохвалов В.П. Космос и биологические ритмы. - Симферополь, 1995. - 206 с.
3. Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Тишкин О.Г. Сверхнизкочастотные электромагнитные поля в биологическом мире. - Киев: Наук.думка, 1992. - 188 с.
4. Магнитные поля и радиорезистентность организма / Сидякин В.Г., Сташков А.М., Копылов А.М., Горохов И.Е., Мартынюк В.С, Янова Н.П./ - Симферополь: СГУ им .М.В. Фрунзе, 1999.-286 с.
5. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А. Влияние солнечной активности на биосферу-ноосферу.- М.: МНЭПУ, 2000. - 374 с.
6. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Московчук О.Б., Чирский Н.В., Верко Н.П, Туманянц Е.Н., Пономарева В.П. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. Монография. - Симферополь: ЧП «Эльиньо», 2003. - 448 с.

7. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Пономарева В.П., Чирский Н.В. Функциональные асимметрии у человека и животных: влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона. Монография. - Симферополь: ЧП «Эльбиль», 2004. - 440 с.
8. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С. Космическая погода и наша жизнь-М.: Изд-во «Век-2», 2004.-221 с.
9. Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р. Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения. Монография - Симферополь: ДИАЙПИ, 2006.-456 с.
10. Владимирский Б.М. Пути русского космизма / Б.М. Владимирский, Л.Д. Кисловский //Москва, 2010. – 143.

#### **Докторские диссертации**

1. Темурьянц Н.А. Нервные и гуморальные механизмы адаптации к действию неионизирующих излучений. Докторская диссертация защищена в 1989 г.
2. Сидякин В.Г. Реакция нервной системы человека и животных на воздействие сверхнизкочастотных электромагнитных полей естественного и искусственного происхождения. Докторская диссертация защищена в 1989 г.
3. Владимирский Б.М. Физика солнечно-земных связей. Докторская диссертация защищена в 1995 г.
4. Чуян О.М. Нейроімуноендокринні механізми адаптації до дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти. Докторская диссертация защищена в 2004 г. Научный консультант – профессор Темурьянц Н.А.
5. Мартынюк В.С. Молекулярно-клеточные механизмы действия ПемП СНЧ. Докторская диссертация защищена в 2008 г.

#### **Кандидатские диссертации**

1. Макеев В.Б. Экспериментальное исследование физиологического действия электромагнитных полей инфранизкой частоты на систему крови животных. Кандидатская диссертация защищена в 1979 г. Научный руководитель - проф. Волынский А.М.
2. Евстафьева Е.В. Коррекция показателей липидного обмена и системы крови слабым переменным магнитным полем инфранизкой у животных в условиях гипокинезии. Кандидатская диссертация защищена в 1983 г. Научный руководитель - доц. Темурьянц Н.А.
3. Копылов А.Н. Модифицирующие действие переменного магнитного поля на показатели системы крови и радиорезистентность животных. Кандидатская диссертация защищена в 1985 г. Научный руководитель - проф. Сташков А.М.
4. Янова Н.П. Влияние неионизирующих излучений на условно-рефлекторную деятельность животных. Кандидатская диссертация защищена в 1986 г. Научный руководитель - доц. Сидякин В.Г.
5. Малыгина В.И. Симптоадреналовая система крыс при адаптации к гипокинезии. Кандидатская диссертация защищена в 1989 г. Научный руководитель - доц. Темурьянц Н.А.

6. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями. Кандидатская диссертация защищена в 1992 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
7. Архангельская Е.В. Динамика высшей нервной деятельности крыс на фоне гелиогеофизических флуктуации. Кандидатская диссертация защищена в 1992 г. Научный руководитель - проф. Сидякин В.Г.
8. Сулимова О.П. Электро- и психофизиологические реакции человека на периферическое воздействие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот. Кандидатская диссертация защищена в 1992 г. Научный руководитель - проф. Сидякин В.Г.
9. Грабовская Е.Ю. Реакция крыс с различными индивидуальными особенностями двигательной активности на действие слабого ПемП СНЧ Кандидатская диссертация защищена в 1992 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
10. Мартынюк В.С. Влияние слабых переменных магнитных полей инфранизких частот на временную организацию физиологических процессов. Кандидатская диссертация защищена в 1992 г. Научный руководитель - проф. Сташков А.М.
11. Горохов И.Е. Магнитоиндуцированное повышение резистентности животных при фракционном рентгеновском облучении в малых дозах. Кандидатская диссертация защищена в 1994 г. Научный руководитель - проф. А.М. Сташков.
12. Пентегова СЕ. Инфраниантные ритмы функционального состояния кардиореспираторной системы и их изменение под влиянием физических факторов у больных хроническим бронхитом. Кандидатская диссертация защищена в 1994 г. Научный руководитель - проф. Сташков А.М.
13. Чемоданова М.А. Влияние факторов внешней среды на зоосоциальное поведение крыс. Кандидатская диссертация защищена в 1994 г. Научный руководитель - проф. В.Г. Сидякин.
14. Шумилина К.А. Пространственно-моторная асимметрия в поведенческих реакциях крыс. Кандидатская диссертация защищена в 1994 г. Научный руководитель - проф. В.Г. Сидякин.
15. Хомякова О.В. Зависимость биологической эффективности ЭМИ КВЧ от длины волны и продолжительности воздействия. Кандидатская диссертация защищена в 1995 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
16. Кириллова А.В. Возрастные и половые особенности поведения крыс при действии переменных магнитных полей. Кандидатская диссертация защищена в 1995 г. Научный руководитель - проф. В.Г. Сидякин.
17. Шехоткин А.В. Влияние переменного магнитного поля сверхнизкой частоты на инфранианную ритмику количественных и функциональных характеристик лейкоцитов крови у интактных и эпифэктомированных крыс. Кандидатская диссертация защищена в 1995 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
18. Насилевич В.А. Изменение инфранианной ритмики некоторых физиологических процессов, контролируемых эпифизом, у интактных и эпифизэктомированных крыс при действии переменного магнитного поля сверхнизкой частоты.

- Кандидатская диссертация защищена в 1996 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
19. Сьшко Д.В. Показатели центральной кардиогемодинамики у спортсменов с различными биоритмотипами в покое и при выполнении физических нагрузок в разные часы суток. Кандидатская диссертация защищена в 1996 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
  20. Пархоменко А.И. Динамика показателей кислотно-щелочного гомеостаза у особей с разнообразными биоритмотипами при выполнении физических нагрузок в разное время суток. Кандидатская диссертация защищена в 1996 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
  21. Московчук О.Б. Вплив низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвичайно високої частоти на інфрадіанну ритміку фізіологічних процесів. Кандидатская диссертация защищена в 2003 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
  22. Чирський М.В. Модифікація неспецифічних адаптаційних реакцій за допомогою низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти. Кандидатская диссертация защищена в 2003 г. Научный руководитель - доцент Чуян Е.Н.
  23. Рема Шехда Хасан Абу Хадда Реакції тучних клітин на дію слабких магнітних полів вкрай низьких частот. Кандидатская диссертация защищена в 2003. г. Научный руководитель - доц. Мартынюк В.С.
  24. Верко Н.П. Функціональна активність нейтрофілів крові щурів при розвитку адаптаційних реакцій різного типу. Кандидатская диссертация защищена в 2003 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н. А.
  25. Мінко В.О. Інфрадіанна ритміка фізіологічних процесів у щурів із низькою руховою активністю у відкритому полі при дії слабого змінного магнітного поля наднизької частоти. Кандидатская диссертация защищена в 2005 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
  26. Пономарьова В.П. Роль індивідуального профілю функціональної асиметрії людини і тварин у реалізації фізіологічної дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти. Кандидатская диссертация защищена в 2004 г. Научный руководитель - доц. Чуян Е.Н.
  27. Шишко О.Ю. Інфрадіанна ритміка стрес-реалізуючих систем і показників неспецифічної резистентності нейтрофілів периферичної крові щурів при гіпокінетичному стресі. Кандидатская диссертация защищена в 2005 г. Научный руководитель - проф. Темурьянц Н.А.
  28. Григор'єв П.С. Зв'язок інфрадіанної ритміки фізіологічних процесів у тварин з варіаціями геліогеофізичних факторів. Кандидатская диссертация защищена в 2005. г. Научный руководитель - доц. Мартынюк В.С.
  29. Калиновский П.С. Вплив змінних магнітних полів надто низької частоти на гідрофобні взаємодії у білкових розчинах. Кандидатская диссертация защищена в 2005. г. Научный руководитель - доц. Мартынюк В.С.

30. Нагаєва Е.И. Инфранинна ритмика фізіологічних процесів у щурів з високою активністю під впливом над низькочастотного магнітного поля. Кандидатская диссертация захищена в 2006 года. Научный руководитель - проф. Н.А. Темурьянц.
31. Джелдубаєва Е.Р. Антиноцицептивна дія низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти. Кандидатская диссертация захищена в 2007 г. Научный руководитель - проф. Чуян Е.Н.
32. Цейслер Ю.В. Вплив магнітних полів наднизької частоти на структурно-функціональні властивості глобулярних білків. Кандидатская диссертация захищена в 2007 г. Научный руководитель - проф. М.С. Мірошніченко.
33. Махонина М.М. Біологічна дія ЕМВ НВЧ в умовах блокади рецепторів опіодних пептидів. Кандидатская диссертация захищена в 2008 г. Научный руководитель - проф. Чуян Е.Н.
34. Демцун Н.А. Сезонные различия регенерации планарий *Dugesia Tigrina* при електромагнітном екранировании. Кандидатская диссертация захищена в 2010 г. Научный руководитель - проф. Н.А. Темурьянц.
35. Ислямов Р.И. Вариабельность реакции на действие слабого переменного магнітного поля у крыс с различными индивидуальными особенностями. Кандидатская диссертация захищена в 2010 г. Научный руководитель - проф. Мартынюк В.С.
36. Трибрат Н.С. Модуляция микроциркуляторных процессов с помощью низкоинтенсивного миллиметрового излучения. Кандидатская диссертация захищена в 2010 г. Научный руководитель - проф. Чуян Е.Н.
37. Туманянц К.М. Вплив низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти на безхребетних тварин (регенерацію планарій, ноцицепцію моллюсків). Кандидатская диссертация захищена в 2011 г. Научный руководитель - проф. Чуян Е.Н.

**Темур'янц Н.А. Кримська школа магнітобіології / Н.А. Темур'янц // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 22-29.**

Наведено відомості про магнітобіологічні дослідження, що проводяться на кафедрі фізіології людини і тварин і біофізики Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського за останні 50 років. Ці дослідження стосуються вивчення біологічної дії низькоінтенсивних електромагнітних полів наднизьких і надвисоких частот та біоритміки.

**Ключові слова:** низькоінтенсивні електромагнітні поля наднизьких і надвисоких частот, біоритміка, кафедра фізіології людини і тварин і біофізики.

**Temuryants N.A. Crimean school magnetobiology / N.A. Temuryants // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 22-29.**

Provides information about magnetobiological studies conducted at the Department of Human and Animal Physiology and Biophysics of Taurida V.I. Vernadsky National University in the last 50 years. These studies relate to the study of biological effects of low-intensity electromagnetic fields and very low microwave frequencies and biorhythm.

**Keywords:** low-intensity electromagnetic fields and very low microwave frequencies, biorhythm, Department of Human and Animal Physiology and Biophysics.

Поступила в редакцію 14.05.2011 г.

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

---

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

Серия «Биология, химия». Том 24 (63). 2011. № 2. С. 30-49.

УДК 612.135:528.811+537-96

## КОЖНАЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В УСЛОВИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ У ИСПЫТУЕМЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*Ананченко М.Н., Чуян Е.Н.*

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

Методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) выявлены определенные различия в механизмах регуляции тканевого кровотока у условно здоровых девушек с разными микроциркуляторными типами в возрасте 18-23 лет. Показано, что в механизмах действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ), или миллиметрового (мм) диапазона, на микрогемодинамику кожи человека основную роль играют эндотелий-зависимый, миогенный эндотелий-независимый и нейрогенный компоненты регуляции тканевого кровотока, однако их выраженность зависит от типологических особенностей микроциркуляторных процессов испытуемых. При этом, курсовое воздействие низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ приводит к нивелированию межгрупповых различий и приближению значений показателей функциональных проб у испытуемых с гипо- и гиперемическими типами к наиболее сбалансированному в функциональном отношении нормоемическому, что свидетельствует о его гомеостатическом действии.

**Ключевые слова:** низкоинтенсивное электромагнитное излучение миллиметрового диапазона, микроциркуляция крови, метод лазерной доплеровской флоуметрии, функциональные пробы, нормо-, гипо-, гиперемический типы микроциркуляции.

### ВВЕДЕНИЕ

Низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) миллиметрового (мм) диапазона или крайне высокой частоты (КВЧ), обладающее высокой биологической эффективностью и применяющееся в настоящее время в медицинской практике для лечения широкого круга заболеваний, оказывает положительный вазотропный эффект на процессы микроциркуляции [1–4]. В наших предыдущих исследованиях [5] методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) были изучены индивидуально-типологические реакции микроциркуляторных процессов на ЭМИ КВЧ.

Однако известно, что приспособительные механизмы и реакции адаптации и компенсации наиболее отчетливо выявляются при повышенной функциональной нагрузке, поскольку в условиях физиологического покоя работа всех систем

организма направлена на поддержание гомеостаза, а во время функциональной нагрузки наблюдается напряжение всех вегетативных функций, обусловленное необходимостью оксигенации рабочих органов на оптимальном уровне. Одним из факторов, обеспечивающих работоспособность организма, является функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. Между тем, сосуды магистрального типа контролируют лишь распределение крови между органами, а способностью регулировать взаимодействие крови и паренхимы органов обладает система микроциркуляции (МЦ) крови [6–9].

Очевидно, что микроциркуляторное русло (МЦР) не является стабильной системой путей транспортного кровотока, его функциональное состояние постоянно меняется, приспосабливается к потребностям органов, что обеспечивается многочисленными структурными механизмами, условиями местного тканевого метаболизма и особенностями гемодинамики в сосудистой системе в целом. Так, итоговый эффект регуляторных механизмов определяется не только интенсивностью и природой действующих факторов, в том числе электромагнитной природы, но и активностью регуляторных компонентов, функциональным состоянием реагирующих структур, обусловленными индивидуально-типологическими особенностями процессов микроциркуляции [10, 11].

Вместе с тем, данных о действии ЭМИ на систему МЦ крови при проведении нагрузочных проб с учетом индивидуальных особенностей в доступной литературе не встречается.

Таким образом, целью данного исследования явилось изучение влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на параметры кожной микроциркуляции в условиях функциональной нагрузки у испытуемых с различными типологическими особенностями.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследовании принимали участие 49 студентов-волонтеров женского пола в возрасте 18-23 лет, условно здоровых, в межменструальном периоде. ЛДФ осуществляли лазерным анализатором кровотока «ЛАКК-02» (производство НПП «Лазма», Россия) с источником лазерного излучения, работающим на длине волны 0,8 мкм. Испытуемые во время исследования находились в положении сидя. Головка оптического зонда фиксировалась на вентральной поверхности второго пальца правой руки. Определялись следующие показатели ЛДФ-граммы: параметр перфузии (ПМ), среднее квадратическое отклонение (СКО), а с помощью вейвлет-преобразования ЛДФ-грамм — амплитуды эндотелиальных (Аэ, 0,0095-0,02 Гц), нейрогенных (Ан, 0,02-0,046 Гц), миогенных (Ам, 0,07-0,15 Гц), дыхательных (Ад, 0,15-0,4 Гц) и пульсовых (Ас, 0,8-1,6 Гц) колебаний, нейрогенный (НТ) и миогенный (МТ) тонусы микрососудов, значения которых обратно пропорциональны амплитудам осцилляций соответственного диапазона [16, 17]. Методика определения этих показателей подробно описана в наших предыдущих статьях [5, 12].

По данным ЛДФ-метрии определяли типологические отличия показателей микроциркуляции на основе которого было выделено три типа ЛДФ-грамм: аperiодический (36,8% испытуемых), монотонный с низкой (31,6% испытуемых) и

высокой перфузией (31,6% испытуемых), соответствующие нормо-, гипо-, гиперемическому микрогемодинамическим типам и отражающие вегетативный статус испытуемых [12], что позволило разделить их на три группы.

Экспериментальное воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось на протяжении десяти дней, ежедневно в утреннее время суток на 7-миканальном аппарате «РАМЕД. ЭКСПЕРТ-04» ( $\lambda=7,1$  мм, частота излучения – 42,4 ГГц, плотность потока мощности – 0,1 мВт/см<sup>2</sup>, частота модуляции – 8 Гц; производство научно-исследовательской лаборатории «Рамед», г. Днепропетровск; регистрационное свидетельство МЗ №783/99 от 14.07.99, выданное КНМТ МОЗ Украины о праве на применение в медицинской практике в Украине) в течение 30-ти минут на симметричные биологически активные точки E-36, RP-6, G-14 и несимметричную GI-15. Выбор этих точек обусловлен их рефлексогенным общеукрепляющим и стимулирующим действием на организм [13].

Для оценки функционального состояния, выявления механизмов регуляции тканевого кровотока, а также определения реактивности и резервов МЦР применялись функциональные пробы, представляющие искусственно вызванную нагрузку на сосуды: дыхательная, постуральная, окклюзионная и фармакологическая. Пробы осуществлялись в первые сутки исследования до воздействия ЭМИ КВЧ (контроль), а также повторялись после пяти- и десятикратного воздействия мм излучения. Во время исследования испытуемые находились в положении лежа, ЛДФ-зонд фиксировался на вентральной поверхности второго пальца правой руки.

**Дыхательная проба** служит для оценки функции рефлекторной активности симпатических волокон, поскольку известно, что глубокий вдох сопровождается активацией суживающих эфферентных симпатических волокон и снижением перфузии [14].

При проведении дыхательной пробы регистрировали фоновую величину перфузии, затем, не прерывая запись, реакцию перфузии в ходе 15-секундной задержки дыхания на высоте глубокого вдоха, после чего испытуемый делал выдох и постепенно восстанавливал спокойное дыхание. После того, как ритм и глубина дыхательных движений приходила к исходному уровню, а ЛДФ-грамма обретала исходный паттерн, регистрацию тканевого кровотока прекращали и фиксировали данные дыхательной пробы.

Трактовка результатов осуществлялась по двум параметрам – исходному НТ в покое и относительной величине снижения ПМ при дыхательной пробе ( $\Delta$ ПМд).

Амплитуду спада при дыхательной пробе оценивали по формуле:

$$\Delta\text{ПМд} = (\text{ПМ}_{\text{исх}} - \text{ПМ}_{\text{мин}}) / \text{ПМ}_{\text{исх}} * 100\%, \quad (1)$$

где ПМ<sub>мин.</sub> – минимальная величина ПМ, зарегистрированная в период глубокого вдоха, а ПМ<sub>исх</sub> – исходная величина ПМ.

для основной популяции испытуемых норматив  $\Delta$ пмд кожи подушечки 2-го пальца – 40% [15, 16].

**Постуральная (ортостатическая) проба** отражает веноартериолярные реакции, осуществляющие регуляцию кожного кровотока, и позволяет определить активность миогенных механизмов веноулярного звена [16, 17].



В процессе проведения пробы регистрировали фоновую запись лдф-граммы, после чего руку испытуемого опускали ниже уровня сердца под углом  $90^{\circ}$  по отношению к туловищу. в свешенном состоянии рука находилась в течение одной минуты, после чего испытуемый возвращал руку в исходное положение. регистрация потока крови осуществлялась в течение всего периода проведения пробы вплоть до полного восстановления тканевого кровотока. во избежание артефактов, запись лдф-граммы временно приостанавливали на момент опускания и поднятия конечности в исходное положение.

В ходе постуральной пробе оценивали:

$\Delta$ ПМП – показатель микроциркуляции, характеризующий снижение уровня перфузии, отмечаемый в период, когда рука находилась в свешенном состоянии относительно фоновых значений пм.

$$\Delta\text{ПМП} = (\text{ПМИСХ} - \text{ПМП}) / \text{ПМИСХ} * 100\%, \quad (2)$$

где ПМП – уровень перфузии, зарегистрированный во время опускания конечности ниже уровня сердца; ПМисх – исходная величина ПМ.

Согласно литературным данным, снижение уровня пм у здоровых лиц в ходе проведения постуральной пробы достигает 30-45% [15, 16].

**Окклюзионная проба** позволяет оценить функциональные резервы капиллярного русла, реактивность гладкомышечных клеток прекапиллярного звена, а также выявить особенности эндотелиальной и миогенной активности [7, 11, 16-18].

При окклюзионной пробе манжета тонометра фиксировалась на плече правой руки. проба проводилась по следующей схеме: в течение одной минуты осуществлялась регистрация исходного уровня кровотока, затем создавалась окклюзия путем быстрого нагнетания давления в манжете до уровня 250 мм рт. ст. и дальнейшая регистрация потока крови в течение трех минут периода окклюзии. по истечении трехминутной окклюзии воздух из манжеты быстро выпускался, в течение последующих шести минут регистрировалась реакция перфузии в ходе восстановления кровотока [16, 17].

При интерпретации результатов окклюзионной пробы оценивались следующие показатели:

РККо (%) – резерв кожного кровотока, регистрируемый в окклюзионной пробе который рассчитывается по формуле:

$$\text{РККо} = \text{ПМисх} / \text{ПМмакс} * 100\%, \quad (3)$$

где ПМисх – исходная величина показателя перфузии;

ПМмакс – максимальное значение показателя перфузии, зарегистрированное в период постокклюзионной гиперемии.

Параметр РККо, регистрируемый после трехминутной окклюзии, характеризует степень сохранности NO-синтазного механизма вазодилатации [19] и составляет в норме, по мнению различных авторов, около 200% [7, 16].

T1/2 (с) – интервал времени от момента достижения ПМ макс до момента полувосстановления, определяемого как время достижения половины величины разности ПМмакс - ПМисх. Данный параметр характеризует реактивность микрососудов прекапиллярного звена [16].

Согласно литературным данным, показатель T1/2 у здоровых лиц в ходе проведения окклюзионной пробы достигает 25-40 с [17].

**Фармакологическая проба с ацетилхолином и нитропруссидом** является методом оценки эндотелиальной активности, основанной на сравнении сосудистых реакций в ответ на введение специфических агентов, вызывающих эндотелий-зависимую (ЭЗВ) (в случае с ацетилхолином-хлоридом (АХ), стимулирующим локальное высвобождение по эндотелием) и эндотелий-независимую (ЭНЗВ) (в случае с нитропруссидом натрия (НП), являющимся донором по и вызывающим расслабление гладкомышечных клеток) вазодилатацию [20-22].

Проведение фармакологической пробы реализовывалось с помощью блока для организации функциональных проб «ЛАКК-ТЕСТ» (Россия, «Лазма») с использованием ионофоретического пробника, к которому подводились растворы апплицируемых веществ. При этом пробник фиксировался на наружной поверхности правого предплечья вблизи лучезапястного сустава. Электрод противоположной полярности фиксировался на запястье другой руки. Аппликацию АХ и НП проводили последовательно на расстоянии не менее 5 см друг от друга.

Фармакологическую пробу проводили по следующей схеме: регистрация исходного уровня тканевого кровотока в течение 1-ой минуты → регистрация кровотока во время проведения ионофореза 1% раствором АХ в течение 3-ех минут при силе тока 5 мкА → регистрация динамики перфузии в период восстановления после ионофореза в течение 6-ти минут. Затем по аналогичной схеме проводили фармакологическую пробу с 1% раствором НП.

По результатам фармакологической пробы оценивали реакцию кожного кровотока (РКК), характеризующую максимальный прирост показателя микроциркуляции в процентах при ионофоретическом введении АХ (РКК(АХ)) и НП (РКК(НП)) относительно исходных значений показателя перфузии, который рассчитывали по формуле:

$$\text{РКК} = \text{ПМмакс} / \text{ПМисх} * 100\%, \quad (4)$$

где ПМмакс – максимальное значение показателя микроциркуляции;  
ПМисх – исходное значение уровня перфузии.

Известно, что АХ вызывает активацию ферментных систем, локализованных в эндотелии, приводя к высвобождению NO эндотелиоцитами, который, воздействуя на гладкомышечные клетки сосудов, приводит к вазодилатации и увеличению потока крови. Реакция на НП, как донор NO, отражает релаксацию сосудов, вызванную непосредственным действием препарата на гладкую мускулатуру. Следовательно, степень выраженности прироста уровня перфузии при введении АХ в сравнении с таковым при введении НП отражает функциональную активность эндотелия (ФАЭ), выражающуюся в способности его к выработке вазодилатора NO. Данный показатель рассчитывали по формуле:

$$\text{ФАЭ} = ((\text{РКК}(\text{АХ}) - \text{РКК}(\text{НП})) / \text{РКК}(\text{НП})) * 100\% \quad (5)$$

Оценивали амплитудные значения эндотелиальных колебаний кожного кровотока, регистрируемые в ЛДФ-грамме, полученные при действии АХ (Аэ(АХ)) и НП (Аэ(НП)), в результате вейвлет-преобразования [16, 23, 24].

Рассчитывали показатель, характеризующий соотношение амплитудных значений эндотелиальных ритмов, полученных при аппликации АХ, относительно данных этого показателя, полученных при введении НП, который вычисляли по формуле:

$$\Delta A_{\text{Э}}(\text{АХ/НП}) = ((A_{\text{Э}}(\text{АХ}) - A_{\text{Э}}(\text{НП})) / A_{\text{Э}}(\text{НП})) * 100\% \quad (6)$$

Для анализа амплитуды эндотелиальных ритмов, полученных во время записи доплерограммы при проведении фармакологической пробы, ЛДФ-граммы были разделены на два периода: период собственно проведения ионофореза и период восстановления.

Оценка достоверности межгрупповых различий полученных данных проводилась с использованием критерия парных сравнений U-теста Манна-Уитни (Mann-Whitney U Test); различия считались достоверными при  $p \leq 0,05$  [25, 26].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что у испытуемых с разными типами ЛДФ-грамм, а, следовательно, с разными типами МЦ наблюдались определенные отличия показателей, зарегистрированных при проведении функциональных проб. Так, у испытуемых с аperiodическим типом ЛДФ-граммы во время проведения постуральной пробы значение  $\Delta\text{ПМп}$ , которое характеризует реактивность гладкомышечных клеток веноулярного звена и активность веноуло-артериолярных реакций [16, 17], составило  $38,35 \pm 1,37\%$ . При дыхательной пробе  $\Delta\text{ПМд}$ , отражающее рефлекторную активность симпатических адренергических волокон [14], было равным  $35,21 \pm 2,51\%$ , а значение НТ в покое -  $2,44 \pm 0,15$ . В ходе окклюзионной пробы значения  $\text{ПМисх}$ ,  $\text{ПМмакс}$  и  $\text{ПМмин}$  были относительно невысокими и составили  $23,38 \pm 1,96$ ,  $8,39 \pm 0,21$ ,  $37,52 \pm 2,57$  перф.ед. соответственно, величина показателя РККо, определяющего резерв капиллярного кровотока [7], была равной  $151,91 \pm 3,45\%$ , а время полувосстановления тканевого кровотока после окклюзии  $T_{1/2}$ , позволяющее оценить реактивность гладкомышечных клеток прекапиллярного звена [16], составило  $27,45 \pm 2,03$  с. При осуществлении фармакологической пробы значение  $\text{РКК(АХ)}$ , указывающего на реактивность сосудистого эндотелия при аппликации АХ [16], составило  $212,71 \pm 8,23\%$ , что на  $14,8\%$  больше ( $p \leq 0,05$ ), чем  $\text{РКК(НП)}$  при введении НП. Такая разница свидетельствует о нормальной реакции микрососудистого эндотелия у испытуемых на ионофоретическое введение АХ и НП [23, 24].  $\text{ФАЭ}$  оказалась равной  $19,43 \pm 2,00\%$ .  $A_{\text{Э}}(\text{АХ})$  в период собственно проведения ионофореза ( $14,64 \pm 0,67$  перф. ед.) и в период восстановления ( $16,41 \pm 0,65$  перф. ед.) была достоверно большей ( $p \leq 0,05$ ), чем  $A_{\text{Э}}(\text{НП})$  перф. ед. на  $12,36\%$  и  $20,72\%$  соответственно. Соотношение амплитуд эндотелиальных колебаний при введении АХ и НП, в период собственно проведения ионофореза составило  $15,99 \pm 1,19\%$ , а в период восстановления  $23,20 \pm 1,99\%$ . Такие данные указывают на адекватную реактивность микрососудов при стимулированной модуляции кровотока у испытуемых данной группы и соответствуют норме, характерной для здоровых людей [16]. Таким образом, аperiodический тип ЛДФ-граммы (нормоемический тип микроциркуляции) характеризуется оптимальным уровнем взаимодействия эндотелий-зависимого, эндотелий-независимого и нейрогенного компонентов регуляции процессов микроциркуляции.

У испытуемых с монотонным типом ЛДФ-граммы и низкой перфузией (гипоэмический тип микроциркуляции) уровень реактивности венулоартериоларных реакций не отличался от такового у испытуемых первой группы, на что указывает отсутствие достоверных отличий в значениях  $\Delta\text{ПМп}$  ( $p \geq 0,05$ ) при постуральной пробе (рис. 1-А). Однако наблюдалась более низкая реакция микрососудов на активацию симпатических адренергических волокон, проявившаяся в меньшем значении  $\Delta\text{ПМд}$  на 26,81% ( $p \leq 0,01$ ) (рис. 1-А) при дыхательной пробе на фоне увеличенного НТ (на 18,03%;  $p \leq 0,05$ ). Известно, что величина снижения кровотока при проведении вазоконстрикторного дыхательного теста зависит от реакции сосуда на активацию адренергических волокон, которая обусловлена как влияниями со стороны симпатической иннервации, так и реактивностью сосудистой стенки [16]. Сосудистый нейрогенный компонент связан с поступлением вазоконстрикторных импульсов по постганглионарным адренергическим симпатическим волокнам. Однако следует отличать тоническую активность нервных центров в условиях физиологического покоя, в поддержании которой основную роль играет бульбарный вазомоторный центр, от фазической рефлекторной в ответ на афферентные влияния, регулируемой спинальным центром, а также учитывать возможность их независимых изменений [16]. Таким образом,  $\Delta\text{ПМд}$  зависит от состояния вегетативной регуляции, в частности, отражает симпатическую активность, которая у испытуемых с монотонным типом и низкой перфузией, по всей видимости, была повышена.

У испытуемых данной группы зарегистрированы также низкие значения ПМисх (на 28,70%;  $p \leq 0,05$ ) и высокие значения РККо (на 46,19%;  $p \leq 0,05$ ). При этом значение  $T1/2$  было ниже на 49,03% ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с таковыми у испытуемых с аperiодическим типом и сопровождалось повышенной  $A\alpha$  (на 21,78%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 1-А). Как известно, реактивная гиперемия является защитным адаптивным феноменом, при котором происходит быстрое восстановление кровотока вслед за периодом его остановки. В основе этого явления лежит вазодилатация гладкой мускулатуры сосудов, обеспечиваемая эндотелиальным NO, синтез которого индуцируется секрецией нейропептида КГРП (кокальцигенина) и нейронального оксида азота (NO) афферентными ноцицептивными С-волоками [8, 16, 18]. Согласно современным данным, вазодилатация в период постокклюзионной гиперемии возникает за счет миогенной активности в результате падения внутрисосудистого давления во время остановки кровотока, а также обеспечивается метаболическими механизмами, активируемыми в связи с гипоксией и накоплением метаболитов в течение окклюзии [8, 27, 28]. При этом также необходимо учитывать понятие “сдвигового напряжения” на эндотелий, возникающего в продольном направлении из-за трения между потоком крови и эндотелиальными клетками, повышение которого увеличивает вазодилатацию сосудов [8, 16, 27]. Такие реакции, вызванные с помощью окклюзионного теста, позволяют исследовать резервные возможности микроциркуляторного русла, миогенную активность, реакцию и компенсаторные возможности эндотелия на функциональную нагрузку [7, 16, 17, 21, 29, 30]. Так, исходно малое количество функционирующих капилляров, большой резерв капиллярного кровотока и высокая реактивность микрососудов прекапиллярного звена, на которую указывает короткий период полувосстановления тканевого

кровотока, выявленные у испытуемых с монотонным типом ЛДФ-граммы и низкой перфузией, свидетельствуют о наличии спазма микрососудов, связанного с возможной повышенной нейрогенной или миогенной активностью [7, 16, 17], а повышенные амплитуды эндотелиальных колебаний, в свою очередь, могут свидетельствовать о компенсаторной роли эндотелий-зависимого компонента [27, 31].

При проведении фармакологической пробы у испытуемых с гипоемическим типом МЦ РКК(АХ) оказалась достоверно выше ( $p \leq 0,05$ ), чем РКК(НП) на 46,83%, что свидетельствует о нормальной реакции микрососудистого эндотелия на введение данных веществ [7, 16]. Показатели РКК(АХ) и ФАЭ, характеризовались достоверно большими значениями относительно таковых у испытуемых с аperiодической ЛДФ-граммой (на 88,59% и 398,04% соответственно). Также достоверно высокой была Аэ(АХ): в период проведения собственно ионофореза разница составила 36,33% ( $p \leq 0,05$ ) относительно значений у испытуемых первой группы, а в период восстановления – 107,63% ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 1-А). Такие значения показателей фармакологической пробы отображают увеличенную чувствительность микрососудов к АХ, а, соответственно, повышенную активность эндотелия и усиление стимулированной секреции NO при его введении, что также может быть связано с компенсаторной ролью эндотелий-зависимого компонента [27, 31].

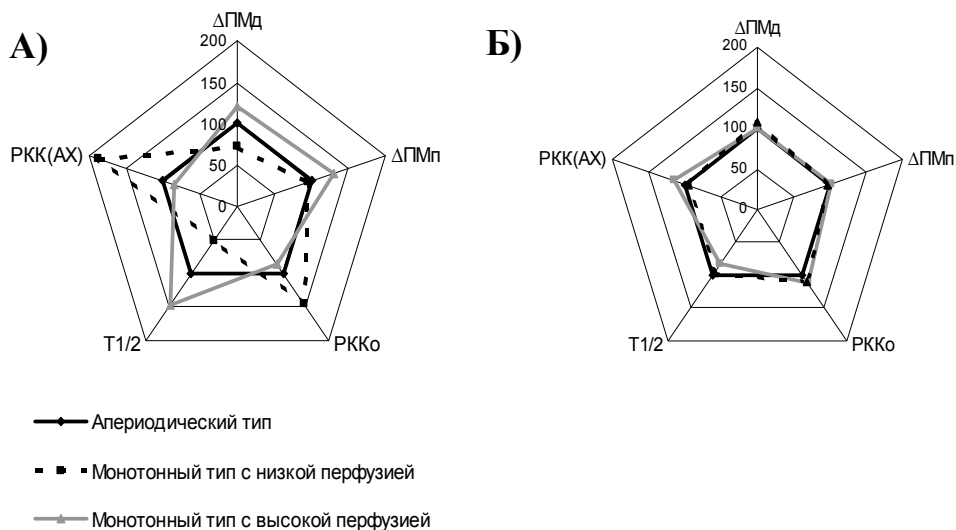


Рис. 1. Различия показателей, зарегистрированных при проведении функциональных проб, у испытуемых с разными типами микроциркуляции до (А) и их изменения после (Б) курсового КВЧ-воздействия (в % относительно значений показателей у испытуемых с нормоемическим типом, принятых за 100%).

*Примечание:* сокращения указаны в тексте.

Следовательно, испытуемые с монотонным типом ЛДФ-граммы и низкой перфузией обладают чрезмерной активностью нейрогенного компонента,

проявляющейся наличием спазма артериального звена МЦ и высокой реактивностью сосудов при стимулированной модуляции кровотока, что подтверждает соответствие этого типа ЛДФ-граммы гипоемическому типу микроциркуляции.

У испытуемых с монотонным характером ЛДФ-граммы и высокой перфузией реакция микрососудов на активацию симпатических адренергических волокон не отличалась от таковой у испытуемых с аperiodическим типом, на что указывает отсутствие достоверных отличий в значениях  $\Delta\text{ПМд}$  ( $p \geq 0,05$ ) при дыхательной пробе (рис. 1-А). Однако была снижена реактивность веноартериолярных реакций при постуральной пробе, о чем свидетельствуют более низкие значения  $\Delta\text{ПМп}$ : на 26,77% ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению со значениями в первой группе и на 31,63% ( $p \leq 0,01$ ) – во второй (рис. 1-А). В понятие сосудистой реактивности, исследуемой при постуральной пробе, включена чувствительность реагирующих структур, в частности, миоцитов к различным воздействиям [32]. Вазоконстрикция в ходе постурального теста осуществляется за счет собственной чувствительности прекапиллярных сфинктеров к повышению внутрисосудистого давления (миогенная эндотелий-независимая реакция) [16]. Поэтому, пониженные значения  $\Delta\text{ПМп}$  у испытуемых с монотонным типом и высокой перфузией отражают низкую активность веноартериолярных реакций, обусловленную слабой миогенной реактивностью гладкомышечных клеток венолярного звена в ответ на моделируемое увеличение внутрисосудистого давления [8, 16].

Окклюзионная проба показала, что для испытуемых этой группы характерны и более низкие значения показателя РККо, чем у испытуемых первой и второй групп на 14,60% ( $p \leq 0,05$ ) и 60,77% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно и высокие значения  $T_{1/2}$  (на 47,47% и 96,50% соответственно;  $p \leq 0,01$ ) на фоне высокой амплитуды миогенных осцилляций по сравнению с таковой у испытуемых с аperiodическим типом ЛДФ-граммы на 21,98% ( $p \leq 0,05$ ) и с монотонным типом и низкой перфузией - на 36,26% ( $p \leq 0,01$ ). При этом ПМисх был выше, чем у испытуемых первой и второй группы на 37,55% ( $p \leq 0,05$ ) и 66,25% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно (рис. 1-А). Сниженный резерв кожного кровотока в окклюзионном тесте свидетельствует о слабом возникновении постокклюзионной гиперемии, причиной чего может являться исходно повышенное венозное давление, возникшее в связи с затрудненным венозным оттоком, в пользу чего также свидетельствует исходно увеличенное количество функционирующих капилляров у испытуемых данной группы [7, 8, 16, 17]. Увеличенное время восстановления кровотока после окклюзии на фоне повышенных амплитуд миогенных осцилляций отражает низкую миогенную активность микрососудов, что обуславливает слабую реактивность прекапиллярного звена [16].

При проведении фармакологической пробы у испытуемых с монотонным характером ЛДФ-граммы и высокой перфузией достоверных различий между РКК(АХ) и РКК(НП), Аэ(АХ) и Аэ(НП) выявлено не было ( $p \geq 0,05$ ), что свидетельствует о сниженной реакции микрососудистого эндотелия на ионофоретическое введение АХ. Однако РКК(АХ) был достоверно ниже такового у испытуемых первой группы на 14,66% ( $p \leq 0,05$ ), а второй - на 103,25% ( $p \leq 0,01$ ), различия в значениях показателя ФАЭ были подобными, и разница составила 40,09% ( $p \leq 0,05$ ) и 438,13% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно (рис. 1-А). Аналогичные

различия наблюдались и в значениях амплитуд эндотелиальных осцилляций: в период собственно проведения ионофореза  $A\Delta(A\Delta X)$  и  $\Delta A\Delta(A\Delta X/HP)$  оказались ниже на 17,14% ( $p \leq 0,05$ ) и 81,06% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно, чем у испытуемых первой группы и на 53,47% ( $p \leq 0,01$ ) и 111,89% ( $p \leq 0,01$ ), чем у испытуемых второй группы; в период восстановления  $A\Delta(A\Delta X)$  была ниже на 17,55% ( $p \leq 0,05$ ), чем у испытуемых первой группы и на 125,18% ( $p \leq 0,01$ ), чем у испытуемых второй группы. Эти результаты отражают сниженную чувствительность сосудов к  $A\Delta X$ , низкий уровень стимулированной секреции NO эндотелием, что, вероятно, обусловлено исходно повышенной вазодилатацией сосудов и затрудненным венозным оттоком, о чем свидетельствуют и данные постуральной и окклюзионной проб.

Таким образом, испытуемые с монотонной ЛДФ-граммой и высокой перфузией характеризуются сниженной активностью миогенного эндотелий-независимого компонента, о чем свидетельствует слабая реактивность веноулоартериолярных реакций и затрудненный венозный отток периферической крови, что подтверждает соответствие гиперемическому типу микроциркуляции.

Следовательно, для испытуемых с разными микроциркуляторными типами характерны определенные различия в механизмах регуляции тканевого кровотока: нормоемический тип характеризуется оптимальным уровнем взаимодействия эндотелий-зависимого, эндотелий-независимого и нейрогенного компонентов регуляции процессов микроциркуляции, гипоемический тип отличается повышенной активностью симпатических адренергических влияний, а гиперемический - сниженными влияниями миогенного эндотелий-независимого компонента.

После курсового воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ у испытуемых с разными типами МЦ произошли определенные изменения изученных показателей. Так, у испытуемых с нормоемическим типом микроциркуляции под влиянием ЭМИ КВЧ показатели постуральной, дыхательной и окклюзионной проб относительно исходных значений достоверно не изменялись ( $p \geq 0,05$ ). Однако происходили статистически значимые изменения показателей фармакологической пробы: наблюдался рост РКК( $A\Delta X$ ) на 19,34% ( $p \leq 0,05$ ) относительно исходных значений и на 9,98% ( $p \leq 0,01$ ) относительно РКК( $HP$ ), коэффициент ФАЭ увеличился на 80,57% ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 2). Также происходило повышение  $A\Delta(A\Delta X)$  и  $\Delta A\Delta(A\Delta X/HP)$  в период собственно проведения ионофореза на 36,33% и 30,83% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно; в период восстановления на 11,51% и 60,20% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно.

Известно, что колебания эндотелиального диапазона вблизи 0,01 Гц обусловлены функционированием эндотелия (выбросом вазодилатора NO), так как из ряда вазоактивных субстанций, выделяемых эндотелием - NO и простангландинов (PGs) – только NO ответственен за сокращение миоцитов с частотой около 0,01 Гц, регистрируемых в доплерограмме [24, 33]. Следовательно, увеличение РККо и ФАЭ на фоне повышения амплитуд эндотелиальных осцилляций при введении  $A\Delta X$ , отмечаемые у испытуемых с нормоемическим типом МЦ после сеансов КВЧ-воздействия, свидетельствует об увеличении реактивности микроваскулярного эндотелия и повышении уровня стимулированной секреции вазодилатора NO [23].

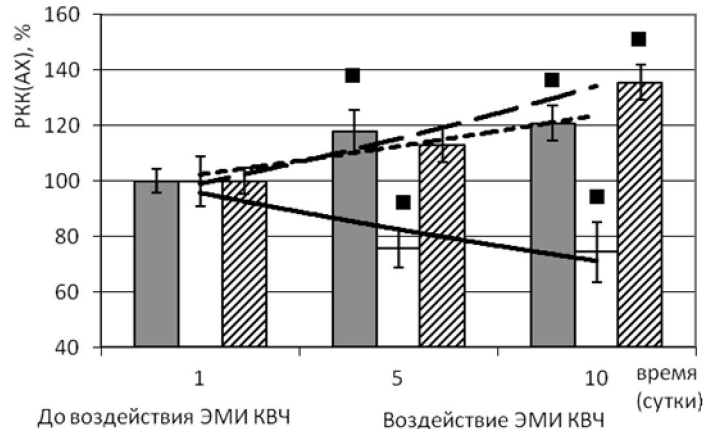


Рис. 2. Динамика реакции кожного кровотока (РКК(АХ), %) под влиянием ЭМИ КВЧ при ионофорезе ацетилхолина во время фармакологической пробы у испытуемых с различными типами ЛДФ-грамм (в % относительно исходных значений, принятых за 100%).

Примечание: ■ – достоверность по отношению к исходным значениям ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, у испытуемых с нормоемическим типом МЦ в механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микроциркуляторные процессы основную роль играет эндотелий-зависимый компонент регуляции тканевого кровотока, в пользу чего свидетельствует увеличение функциональной активности эндотелия и повышение стимулированной секреции NO.

У испытуемых с гипоемическим типом МЦ в результате курсового воздействия ЭМИ КВЧ значения показателей постуральной пробы достоверно не изменялись ( $p \geq 0,05$ ). Однако наблюдалось статистически значимое увеличение реакции кожного кровотока при дыхательной пробе, на что указывает повышение ДПМд (на 49,92%;  $p \leq 0,05$ ) по отношению к исходным значениям на фоне снижения НТ (на 28,30%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 3).

Поскольку, при дыхательной пробе оценивается фазическая активность симпатического преганглионарного нейрона [16], то отмечаемое увеличение ДПМд при курсовом воздействии ЭМИ КВЧ связано со снижением симпатической рефлекторной регуляции. К тому же, как известно, нейрогенный тонус в покое отражает артериолярный тонус микрососудов, снижение которого связано с ослаблением прессорных симпатических влияний при тонической активности. В результате происходит снижение жесткости сосудистой стенки, сопровождающееся уменьшением периферического сопротивления и увеличением притока крови в микроциркуляторное русло [34-36], что, по-видимому, и наблюдалось у испытуемых с гипоемическим микрогемодинамическим типом при многократном воздействии ЭМИ КВЧ. Следовательно, в результате мм терапии у испытуемых данной группы наблюдалось повышение реактивности микрососудов на активацию симпатических адренергических волокон, что отражается в уменьшении ДПМд и нейрогенного тонуса микрососудов.



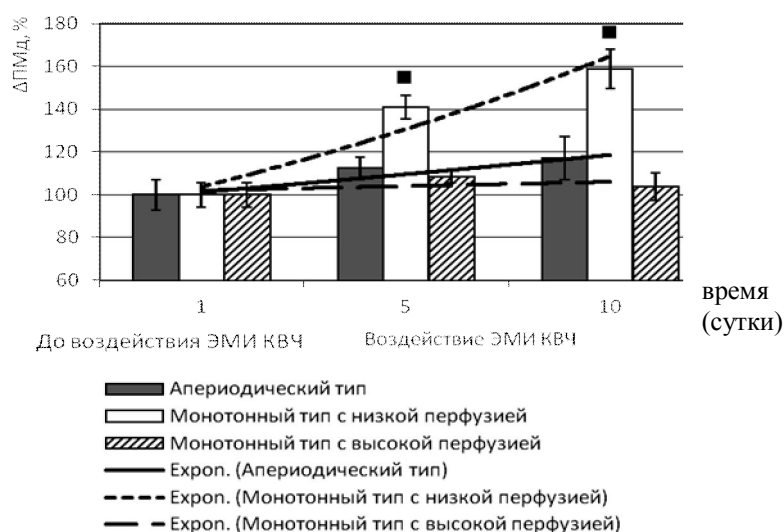


Рис. 3. Динамика изменения уровня перфузии ( $\Delta$ ПМд) под влиянием ЭМИ КВЧ при проведении дыхательной пробы у испытуемых с различными типами ЛДФ-грамм (в % относительно исходных значений, принятых за 100%).

*Примечание:* обозначения те же, что и на Рис. 2.

Кроме того, у испытуемых данной группы зарегистрировано увеличение ПМисх (на 83,81%;  $p \leq 0,05$ ) и уменьшение РККо (на 14,35%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 4-А), что, вероятно, связано с увеличением количества исходно функционирующих капилляров и притока крови в микроциркуляторное русло. Удлинение периода полувосстановления кровотока после окклюзии (на 49,93%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 4-Б) указывает на снижение реактивности микрососудов прекапиллярного звена, обусловленное уменьшением миогенной активности гладкомышечных клеток [34-36]. Понижение  $A_z$  (на 12,78%;  $p \leq 0,05$ ), а, соответственно, снижение релизинга NO эндотелием при реактивной постокклюзионной гиперемии, возможно, связано с уменьшением необходимости его компенсаторной роли при модулированном кровотоке в результате ослабления симпатических влияний у испытуемых данной группы при воздействии ЭМИ КВЧ.

В результате КВЧ-воздействия у испытуемых с гипоемическим типом МЦ происходили изменения значений показателей в фармакологической пробе, а именно снижение РКК(АХ) на 25,21% ( $p \leq 0,05$ ) относительно исходных значений, при этом разница по сравнению с РКК(НП) уменьшилась на 12,98% ( $p \leq 0,05$ ); ФАЭ понизился в среднем на 44,25% ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 2). Кроме того, происходило снижение  $A_z$ (АХ) и  $\Delta A_z$ (АХ/НП) в период собственно проведения ионофореза на 14,05% и 9,25% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно; в период восстановления на 15,37% и 23,74% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно. Такие изменения данных показателей, возможно, также связаны с уменьшением компенсаторной роли эндотелий-зависимого компонента у испытуемых данной группы, что подтверждает результаты окклюзионной пробы.

Следовательно, у испытуемых с гипоемическим типом МЦ наиболее чувствительным звеном при действии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ является нейрогенный компонент регуляции микрогемодинамики, о чем свидетельствует снижение прессорных симпатических влияний на гладкие мышцы сосудов как при тонической, так и фазической активности, что привело к увеличению вазодилатации микрососудов и артериального притока крови.

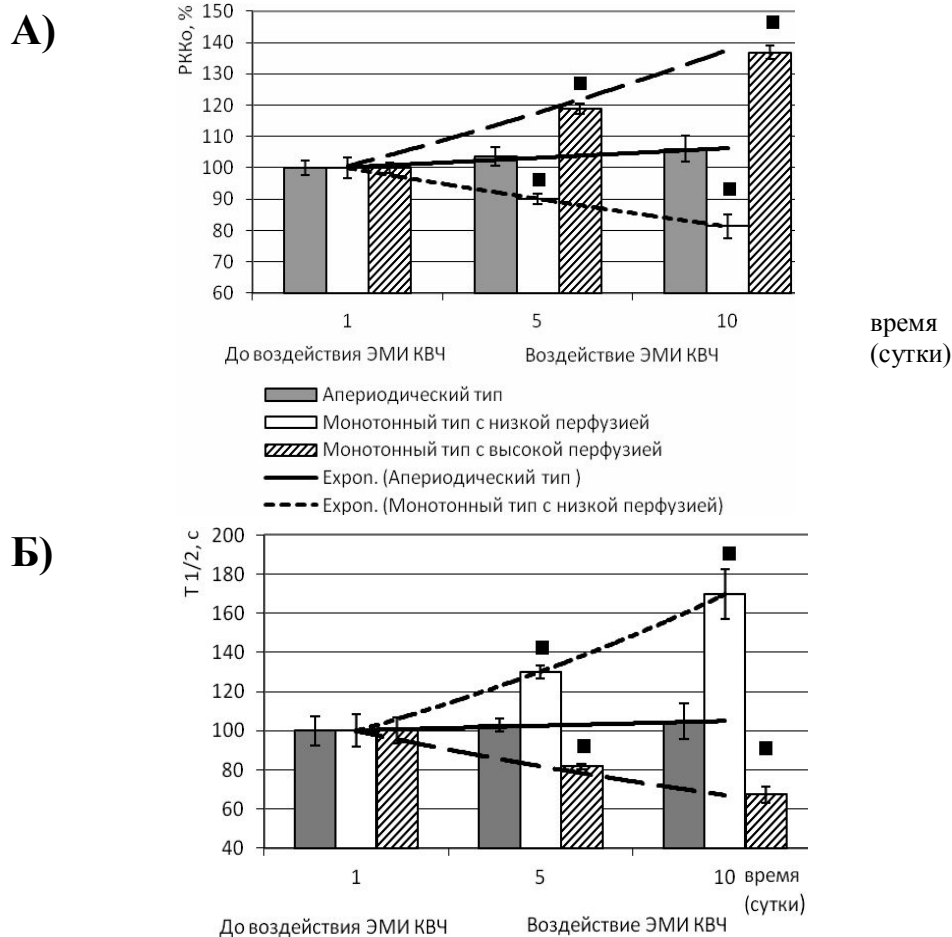


Рис. 4. Динамика значений А) резерва капиллярного кровотока (РККо, %) и Б) периода полувосстановления тканевого кровотока ( $T_{1/2}$ , с) под влиянием ЭМИ КВЧ в окклюзионной пробе у испытуемых с различными типами ЛДФ-грамм (в % относительно исходных значений, принятых за 100%).  
 Примечание: обозначения те же, что и на Рис. 2.

У испытуемых с гиперемическим микрогемодинамическим типом в результате курсового воздействия ЭМИ КВЧ изменений в значениях показателей дыхательной

пробы обнаружено не было ( $p \geq 0,05$ ). Однако отмечалось повышение реактивности веноартериолярных реакций, о чем свидетельствует увеличение  $\Delta\text{ПМп}$  (на 20,68%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 5). Известно, что показатель  $\Delta\text{ПМп}$  характеризует реактивность гладкомышечных клеток веноулярного звена и активность веноуло-артериолярных реакций [7, 16, 17]. Следовательно, его повышение у испытуемых с гиперемическим типом в результате мм воздействия может быть обусловлено увеличением чувствительности гладкомышечных клеток к изменению гидростатического давления и усилением их сократительной активности при стимулированной модуляции кровотока. Следствием таких изменений является активизация миогенных реакций, позволяющая облегчить венозный отток, ограничить уровень перфузионного давления на внутреннюю поверхность микрососудов, а, соответственно, избежать развития периваскулярного отека и трофических нарушений [8].

В ходе окклюзионного теста в результате КВЧ-воздействия у испытуемых данной группы было зарегистрировано снижение  $\text{ПМисх}$  (на 20,37% относительно исходных значений;  $p \leq 0,05$ ) на фоне снижения  $\text{Ам}$  (на 17,76;  $p \leq 0,05$ ). Согласно литературным данным, осцилляции миогенного диапазона отображают активность миоцитов прекапиллярных сфинктеров и прекапиллярных метартериол и являются ведущим механизмом регуляции числа функционирующих кожных капилляров [17, 24]. Кроме того, выявлена положительная корреляция между числом функционирующих капилляров по данным капилляроскопического исследования, и амплитудой миогенных колебаний по данным ЛДФ-метрии [36]. Следовательно, уменьшение  $\text{ПМисх}$  на фоне снижения амплитуд миогенных осцилляций при окклюзионной пробе в результате мм-терапии свидетельствует о некоторой вазоконстрикции прекапилляров. Увеличение  $\text{РККо}$  (на 27,9%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 4-А), вероятно, является следствием уменьшения количества исходно функционирующих капилляров. Сокращение периода полувосстановления кровотока после окклюзии (на 25,65%;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 4-Б) происходит за счет повышения миогенной реактивности микрососудов при экспериментально моделируемом увеличении потока крови.

К тому же у испытуемых с гиперемическим типом МЦ в результате мм терапии наблюдались статистически значимые изменения значений показателей фармакологической пробы: происходило увеличение  $\text{РКК(АХ)}$  на 35,54% ( $p \leq 0,05$ ) относительно исходного уровня значений, разница по сравнению с  $\text{РКК(НП)}$  увеличилась на 12,73%;  $\text{ФАЭ}$  увеличился в среднем на 46,31% ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 2). Происходило и повышение  $\text{Аэ(АХ)}$  и  $\Delta\text{Аэ(АХ/НП)}$  как в период собственно проведения ионофореза на 32,98% и 148,73% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно, так и в период восстановления, когда  $\text{Аэ(АХ)}$  увеличилась на 25,20% ( $p \leq 0,05$ ). Причиной увеличенной реактивности микрососудистого эндотелия и стимулированной секреции  $\text{НО}$  может являться повышение “напряжения сдвига” на микрососуды, возникающего в связи с усилением миогенной активности у испытуемых данной группы при КВЧ-воздействии [16].

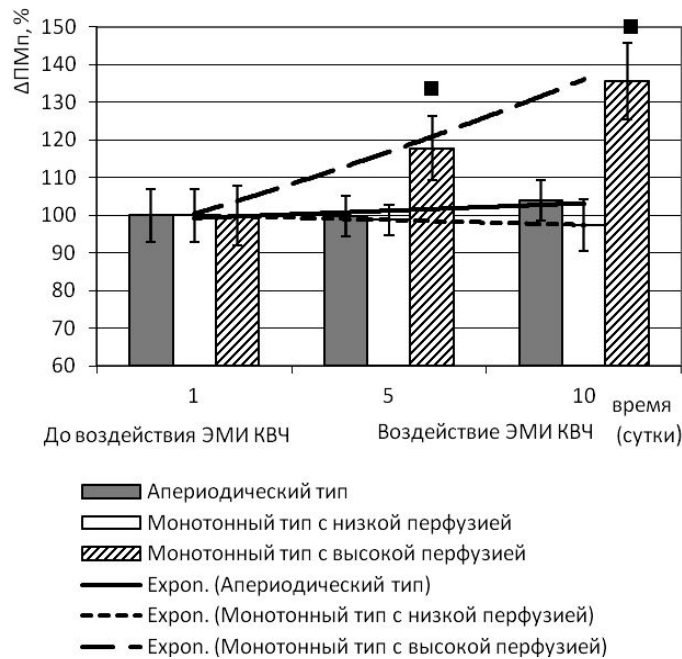


Рис. 5. Динамика изменения уровня перфузии ( $\Delta\text{ПМп}$ ) под влиянием ЭМИ КВЧ при проведении постуральной пробы у испытуемых с различными типами ЛДФ-грамм (в % относительно исходных значений, принятых за 100%).  
 Примечание: обозначения те же, что и на Рис. 2.

Следовательно, в механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микроциркуляторные процессы у испытуемых с гиперемическим типом микрогемодинамики основную роль играют миогенный эндотелий-независимый механизм регуляции микроциркуляторных процессов, в пользу чего свидетельствует увеличение уровня реакции кожного кровотока при постуральной и окклюзионной пробах, сокращение периода полувосстановления и снижение амплитуд миогенных осцилляций при регистрации постокклюзионной реактивной гиперемии, что приводит к повышению миогенной активности микрососудов, а, следовательно, снижению артериального притока и облегчению венозного оттока крови.

В механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микрогемодинамику кожи человека основную роль играют эндотелий-зависимый, миогенный эндотелий-независимый и нейрогенный компоненты регуляции тканевого кровотока, однако их выраженность зависит от типологических особенностей микроциркуляторных процессов испытуемых. Наименее выраженные изменения изученных показателей в результате курсового воздействия ЭМИ КВЧ отмечены у испытуемых, имеющих наиболее сбалансированный нормоемический тип микроциркуляции (апериодическую ЛДФ-грамму), максимально выраженный вазотропный, однако разнонаправленный, эффект наблюдался у испытуемых с исходно выраженными отклонениями показателей микрогемодинамики, то есть, имеющих монотонные типы ЛДФ-граммы (гипо- и

гиперемический типы микроциркуляции). Обращает на себя внимание тот факт, что в результате курсового КВЧ-воздействия происходило постепенное сближение значений изученных показателей у волонтеров разных групп (рис. 1-Б).

При этом изменение величины физиологических реакций, направленность и механизмы их обеспечивающие на действие мм излучения у испытуемых с различными типами микроциркуляции были разными и зависели от исходного состояния биологической системы, что согласуется с законом "начальных значений": чем выше исходная активность физиологического состояния, тем меньше ее относительное изменение при воздействии импульсов [Wilder, 1967]. Как известно, основной действующей силой низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ является информационная составляющая данного фактора, которая запускает собственные системы регуляции нарушенного гомеостаза [37–39]. Следовательно, именно избирательное действие ЭМИ КВЧ преимущественно на измененные параметры без влияния на исходно нормальные и являлась его отличительной особенностью, связанной с механизмом действия.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в результате курсового воздействия ЭМИ КВЧ произошла эффективная модуляция процессов МЦ, что выразилось в отсутствии статистически значимых межгрупповых различий и приближении значений изученных показателей у испытуемых с гипо- и гиперемическим типами микроциркуляции к таковым у испытуемых с нормоемическим типом микроциркуляции, как наиболее сбалансированному, что свидетельствует о гомеостатическом действии этого физического фактора.

#### **ВЫВОДЫ**

1. Для испытуемых с разными микроциркуляторными типами характерны определенные различия в механизмах регуляции тканевого кровотока: нормоемический тип характеризуется оптимальным уровнем взаимодействия эндотелий-зависимого, эндотелий-независимого и нейрогенного компонентов регуляции процессов микроциркуляции; гипоемический тип отличается повышенной активностью симпатических адренергических влияний, а гиперемический - сниженными влияниями миогенного эндотелий-независимого компонента.
2. В механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микрогемодинамику кожи человека основную роль играют эндотелий-зависимый, миогенный эндотелий-независимый и нейрогенный компоненты регуляции тканевого кровотока, однако их выраженность зависит от типологических особенностей микроциркуляторных процессов испытуемых. Наименее выраженные изменения изученных показателей в результате курсового воздействия ЭМИ КВЧ отмечены у испытуемых, имеющих наиболее сбалансированный нормоемический тип микроциркуляции (апериодическую ЛДФ-грамму), максимально выраженный вазотропный, однако разнонаправленный, эффект наблюдался у испытуемых с исходно выраженными отклонениями показателей микрогемодинамики, то есть, имеющих монотонные типы ЛДФ-граммы (гипо- и гиперемический типы микроциркуляции).

3. В механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микроциркуляторные процессы у испытуемых с нормоемическим типом микроциркуляции основную роль играет эндотелий-зависимый компонент регуляции тканевого кровотока, на что указывает увеличение амплитуд эндотелиальных колебаний базального кровотока на 9,7% ( $p \leq 0,05$ ) и стимулированной NO-синтазной активности (увеличение уровня реакции кожного кровотока на 19,34% ( $p \leq 0,05$ ) при ионофоретическом введении ацетилхолина) в фармакологической пробе.
4. В механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микроциркуляторные процессы у испытуемых с гипоемическим типом микрогемодинамики ведущую роль играет нейрогенный компонент тканевого кровотока, в пользу чего свидетельствует снижение нейрогенного тонуса на 30,4% ( $p \leq 0,05$ ) и уровня реакции кожного кровотока на 42,92% ( $p \leq 0,05$ ) в дыхательной пробе, что приводит к снижению тонических симпатических адренергических влияний и фазической рефлекторной активности нейрогенного компонента, релаксации прекапилляров и увеличению артериального притока крови в микрососуды.
5. В механизмах действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на микроциркуляторные процессы у испытуемых с гиперемическим типом микрогемодинамики основную роль играют миогенный эндотелий-независимый механизм регуляции микроциркуляторных процессов, в пользу чего свидетельствует увеличение уровня реакции кожного кровотока при постуральной (на 20,68%;  $p \leq 0,05$ ) и окклюзионной (на 27,9%;  $p \leq 0,05$ ) пробах, сокращение периода полувосстановления (на 25,65%;  $p \leq 0,05$ ) и снижение амплитуд миогенных осцилляций (17,76%;  $p \leq 0,05$ ) при регистрации постокклюзионной реактивной гиперемии, что приводит к повышению миогенной активности микрососудов, а, следовательно, снижению артериального притока и облегчению венозного оттока крови.
6. ЭМИ КВЧ обладает избирательным действием на показатели микроциркуляции, оказывая влияние преимущественно на исходно измененные без влияния на исходно нормальные, что приводит к нивелированию межгрупповых различий и приближению значений показателей микроциркуляции у испытуемых с гипо- и гиперемическими типами к наиболее сбалансированному в функциональном отношении нормоемическому, что свидетельствует о гомеостатическом действии этого физического фактора.

#### Список литературы

1. A Manual of Acarology/ [edited by G.W.Krantz, D.E.Walter]. – Texas Tech University Press, 2009. – 595 p.
2. Трибрат Н.С. Модуляция микроциркуляторных процессов с помощью низкоинтенсивного миллиметрового излучения: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук: 03.00.13 / Трибрат Наталья Сергеевна. – Симферополь, 2010 г. – 198 с.
3. Miura M. Non-thermal vasodilatation by radio frequency burst-type electromagnetic field radiation in the frog / M. Miura, J. Okada // J. Physiol. – 1991. – №435. – P. 257–273.
4. Skin temperature changes induced by strong static magnetic field exposure / S. Ichioka, M. Minegishi, M. Iwasaka [et al.] // Bioelectromagnetics. – 2003. – №24. – P. 380–386.

5. Jauchem JR. Exposure to extremely-low-frequency electromagnetic fields and radiofrequency radiation: cardiovascular effects in humans / JR. Jauchem // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* – 1997. – №70(1). – P. 9–21.
6. Чуян Е.Н. Индивидуально-типологические особенности процессов микроциркуляции: влияние низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Е.Н. Чуян, М.Н. Ананченко // *Учёные записки Таврического Национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* – 2009. – Том 22 (61). – № 4. – С. 236–254.
7. Залмаев Б.Е. Методологические аспекты изучения микроциркуляторного русла крови у спортсменов / Б.Е. Залмаев, Т.М. Соболева // *Труды ученых ГЦОЛИФКа: 75 лет: Ежегодник.* – М. – 1993. – С. 280–292.
8. Козлов В.И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии: пособие для врачей / Козлов В.И. – М., 2001. – 22 с.
9. Поленов С.А. Основы микроциркуляции / С.А. Поленов // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2008. – №1(25). – С. 5–19.
10. Чернух А.М. Микроциркуляция / Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. // М.: Медицина. – 1984. – 456 с.
11. Куприянов В.В. Микроциркуляторное русло / Куприянов В.В., Караганов Я.Л., Козлов В.И. // М.: Медицина. – 1975. – 213 с.
12. Лукьянов В.Ф. Состояние вазомоторики и реактивность микроциркуляторных сосудов при гипертонической болезни / В.Ф. Лукьянов // *Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике.* – 1996. – № 5. – С. 24.
13. Чуян Е.Н. Индивидуально-типологический подход к исследованию процессов микроциркуляции крови / Е.Н. Чуян, М.Н. Ананченко // *Учёные записки Таврического Национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* – 2009. – Том 22 (61). – №3. – С. 166–180.
14. Мачерет Е.Л. Руководство по рефлексотерапии / Е.Л. Мачерет, И.З. Самосюк // Киев: Вища шк., 1982. – 302 с.
15. Mück-Weymann M.E. Respiration dependence of cutaneous laser Doppler flow motion / M.E. Mück-Weymann, H.P. Albrecht, D. Hiller // *Vasa.* – 1994. – V. 23, № 4. – P. 229–304.
16. Азизов Г.А. Функциональные пробы в оценке нарушений микроциркуляции в оценке заболеваний сосудов нижних конечностей / Г.А. Азизов // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2006. – Т. 5. – С. 37–43.
17. Крупаткин А.И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров // М.: Медицина, 2005. – 254 с.
18. Маколкин В.И. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в кардиологии / Маколкин В.И., Бранько В.В., Богданова Э.А. // *Пособие для врачей.* – М.: Россельхозакадемия, 1999. – 48 с.
19. Fromy V. Early decrease of skin blood flow in response to locally applied pressure in diabetic subjects / V. Fromy, P. Abraham, C. Bouvet // *Diabetes.* – 2002. – V. 51. – P. 1214–1217.
20. Вильчук К.У. Функциональные пробы, применяемые в диагностике дисфункции эндотелия: метод рекомендации / Вильчук К.У., Максимович Н.А., Максимович Н.Е. // Гродно. – 2001. – 33 с.
21. Гомазков О.А. Эндотелин в кардиологии: молекулярные, физиологические и патологические аспекты / О.А. Гомазков // *Кардиология.* – 2000. – № 2. – С.50–58.
22. Внутриклеточные сигнальные системы в эпителий- и эндотелийзависимых процессах расслабления гладких мышц / Л.В. Капилевич, И.В. Ковалев, М.Б. Баскаков [и др.] // *Успехи физиол. наук.* – 2001. – Т. 32, № 2. – С. 88–98.
23. Затейщиков Д.А. Функциональное состояние эндотелия у больных артериальной гипертензией и ишемической болезнью сердца / Д.А. Затейщиков, Л.О. Минушкина, О.Ю. Кудряшова // *Кардиология.* – 2000. – Т. 40, № 2. – С. 14–17.
24. Oscillations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators / H.D. Kvernmo, A. Stefanovska, K.A. Kirkeboen [et al.] // *Microvascular Research.* – 1999. – V.57. – P. 298–309.
25. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system. / A. Stefanovska, M. Bracic // *Contemporary Physics.* – 1999. – V. 40, № 1. – P.31–35.
26. Боровиков В.П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере / Боровиков В.П. // Для профессионалов. – СПб.: Питер. – 2001. – 656 с.

27. Лакин Г.Ф. Биометрия / Лакин Г.Ф. // М.: Высшая школа. - 1990. - 352 с.
28. Сагач В.Ф. О механизмах вовлечения эндотелия в реакцию реактивной гиперемии / В.Ф. Сагач, М.Н. Ткаченко // Бюлл.эксперим. биологии и медицины. - 1990. - Т.109. - №5. - С.420 - 422.
29. Власов Т.Д. Механизмы гуморальной регуляции сосудистого тонуса // Т.Д. Власов // Региональное кровообращение и микроциркуляция. - 2002.- № 4. - С.68-73.
30. Влияние нитропрусида натрия на мембранный потенциал и механическое напряжение гладкомышечных клеток аорты крысы / И.В. Ковалев, А.А. Панов, М.Б. Баскаков [и др.] // Рос. физиол. журн. им. М.И. Сеченова. - 1997. - Т.83, № 7. - С. 70-76.
31. Ешкина С.Л. Особенности локальной микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца с различными типами акцентуаций характера: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук: 14.00.34 / С.Л. Ешкина // Тверь - 2009. - 23 с.
32. Березовський В.Я. Реактивна гіперемія як показник якості функціонування ендотелію / В.Я. Березовський, О.Б. Динник, І.Г. Літовка // Медична гідрологія та реабілітація. - 2006. - Т. 4, № 1. - С. 4-14.
33. Боголюбов В.М. Общая физиотерапия / В.М. Боголюбов, Г.Н. Пономаренко - М. - С-Пб.: Правда. - 1996. - 480 с.
34. Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandins / P. Kvandal, A. Stefanovska, M. Veber [et al.] // Microvascular Research. - 2003. - Vol.65. - P. 160-171.
35. Synergetic interpretation of patterned vasomotor activity in microvascular perfusion: discrete effects of myogenic and neurogenic vasoconstriction as well as arterial and venous pressure fluctuations / H. Schmid- Schonbein, S. Ziege, R. Grebe [et al.] // Int. J. Microcir. - 1997. - № 17. - P. 346-359.
36. Крупаткин А.И. Клиническая нейроангиофизиология конечностей (периваскулярная иннервация и нервная трофика) / А.И. Крупаткин - М.: Научный мир, 2003 - 328 с.
37. Крупаткин А.И. Влияние симпатической иннервации на тонус микрососудов и колебания кровотока кожи / А. И. Крупаткин // Физиология человека. - 2006. - Т. 32, № 5. - С. 95.
38. Силантьева Е.С. Лечение хронического воспаления придатков матки (гемодинамические аспекты КВЧ-терапии): диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук: 14.00.01 / Силантьева Елена Суликовна. - Москва, 2000 г. - 128 с.
39. Дикке Г.Б. КВЧ-терапия в комплексном лечении вегетативно-невротических нарушений у женщин после гистерэктомии в репродуктивном возрасте: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук: 14.00.34 / Г.Б. Дикке // Томск, 1996. - 25 с.
40. Ковалев А.А. Неосознаваемые эффекты влияния нетепловых электромагнитных излучений миллиметрового диапазона на интегративные звенья саморегуляции гомеостаза человека / А.А. Ковалев // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - 1997. - Т. 9. - С. 18-24.

**Ананченко М.М. Шкірна мікроциркуляція в умовах функціонального навантаження у випробовуваних з різними типологічними особливостями під впливом низькоінтенсивного міліметрового випромінювання / М.М. Ананченко, О.М. Чуян // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. - 2011. - Т. 24 (63), № 2. - С. 30-49.**

Методом лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ) виявлені певні відмінності у механізмах регуляції тканинного кровотоку в умовно здорових дівчат з різними мікроциркуляторними типами у віці 18-23 років. Показано, що у механізмах дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання край високої частоти (ЕМВ КВЧ), або міліметрового (мм) діапазону на мікрогемодинаміку шкіри людини основну роль відіграють ендотелій-залежний, міогенний ендотелій-незалежний й нейрогенний компоненти регулювання тканинного кровотоку, проте їх виразність залежить від типологічних особливостей мікроциркуляторних процесів випробовуваних. До того ж, курсовий вплив ЕМВ КВЧ призводить до нівелизації міжгрупових відмінностей та наближення значень показників функціональних проб у випробовуваних з гіпо- і гіперемічними типами до найбільш збалансованого у функціональному відношенні нормоемічного, що свідчить про його гомеостатичну дію.



**Ключові слова:** низькоінтенсивне електромагнітне випромінювання міліметрового діапазону, мікроциркуляція крові, метод лазерної доплерівської флоуметрії, функціональні проби, нормо-, гіпо-, гиперемічний типи мікроциркуляції.

**Ananchenko M.N. Skin microcirculation in the functional load of the subjects with different typological characteristics under the influence of low intensity millimeter radiation / M.N. Ananchenko, E.N. Chuyan // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 30-49.**

The method of laser doppler flowmetry (LDF) revealed certain differences in the mechanisms of regulation of tissue blood flow in apparently healthy female aged 18 to 23 years, with different микроциркуляторними types. It is shown, that in the mechanisms of the action of low-intensity electromagnetic radiation of extremely high-frequency (EMR EHF), or millimeter range (mm) leads on microblood circulation human skin play the main role endothelium-dependent, myogenic endothelium-independent and neurogenic components of the regulation of tissue blood flow, but their expression depends on the typological peculiarities of the microcirculation processes subjects. Thus, course impact of EMR EHF leads to leveling of intergroup differences and approximation values of the functional tests in subjects with hypo- and hyperemic types to the most balanced in the functional relation normoemical, that testifies to its homeostatic action.

**Keywords:** low-intensity electromagnetic radiation of millimeter range, the microcirculation of the blood, the method of laser Doppler flowmetry, functional tests, hypoemical, hyperemic, normoemical types of microcirculation.

*Поступила в редакцію 14.05.2011 г.*

**УДК 579.62+615.33+599.537**

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ УСЛОВНО ПАТОГЕННОЙ  
МИКРОФЛОРЫ ДЕЛЬФИНОВ АФАЛИН (*TURSIOPS TRUNCATUS*),  
ОБИТАЮЩИХ В СЕВАСТОПОЛЬСКОМ ОКЕАНАРИУМЕ**

*Андреева Н.А., Остапчук Т.В., Лискун О.В.*

*Научно-исследовательский центр ВС Украины «Государственный океанариум»,  
Севастополь, Украина  
E-mail: nataliy-andreev@yandex.ru*

Приведены многолетние данные по исследованию чувствительности к антибиотикам микрофлоры дельфинов, содержащихся в условиях океанариума. Показана высокая восприимчивость условно-патогенных микроорганизмов к препаратам группы циклоспоринов. Полученные данные позволяют осуществлять выбор оптимального препарата и разрабатывать индивидуальные тактики антибиотикотерапии.

**Ключевые слова:** чувствительность к антибиотикам, условно патогенная микрофлора, дельфин афалина.

**ВВЕДЕНИЕ**

Морские млекопитающие, дельфины в том числе, очень восприимчивы ко многим болезням и паразитам. В неволе китообразным может угрожать гибель от тяжелых бактериальных инфекций [1, 2]. Важным показателем микробиологической адаптации и состояния здоровья дельфинов в этом случае служит состав микрофлоры верхних дыхательных путей и кожных покровов животных. Многолетними исследованиями, проводимыми в Севастопольском океанариуме начиная с 70-х годов, установлено, что у дельфинов, как и у других животных, бактериальные ассоциации обладают тропностью к легочной ткани. Было также показано, что изменение бактериального статуса дыхательных путей является индикатором состояния здоровья дельфинов. У больных животных, как правило, наблюдалось значительное возрастание количества микробов. В литературных источниках также указывается, что достаточно частыми заболеваниями малых китообразных, приводящими к их гибели в неволе, являются бактериальная или микотическая инфекции легких [3–6]. Кроме того, как в природе [7], так и при содержании в океанариумах, большинство дельфинов страдают от кожных поражений [6, 8–11].

Для предотвращения заболеваемости и гибели дельфинов в океанариумах разрабатываются различные рекомендации по профилактике, диагностике и лечению инфекционных заболеваний [12]. Одним из условий успешного лечения животных является правильный подбор антибиотиков.

Как известно, общим для всех антибиотиков является то, что они воздействуют на бактерии в фазе активного роста и размножения. Основной их мишенью является

клеточная стенка, а, именно, ее структурная основа – пептидогликан (муреин). Кроме того, различные группы антибиотиков могут ингибировать синтез нуклеиновых кислот и белков в бактериальной клетке на уровне рибосом [13, 14].

Важным аспектом широкого использования антибиотиков в медицинской и ветеринарной практике является обоснованное применение, исключающее формирование в популяциях микроорганизмов множественной устойчивости к используемым препаратам. Кроме того, следует учитывать, что антимикробная активность одного и того же антибиотика не всегда совпадает при испытании его *in vitro* и *in vivo*. Это объясняется инактивацией препарата в организме животного. Достижение терапевтического эффекта без развития осложнений возможно только при соблюдении научных принципов рациональной химиотерапии. Поэтому при лечении инфекций необходимо обязательное исследование эффективности данного препарата применительно к конкретному микроорганизму.

Целью данной работы было исследование микрофлоры больных дельфинов, выделение предполагаемых возбудителей инфекций, определение их чувствительности к лекарственным препаратам и подбор антибиотиков для проведения наиболее эффективной терапии.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований являлась условно-патогенная микрофлора дельфинов-афалин (*Tursiops truncatus*), обитающих в Океанариуме, и ее чувствительность к различным антибиотикам.

Определение чувствительности к антибиотикам микрофлоры дельфинов проводили *in vitro* методом диффузии в агар (метод дисков) [15].

Использовались диски, изготовленные из картона, обладающего специальными свойствами, и пропитанные стандартными растворами антибиотиков определенной концентрации.

Выбор дисков определялся видом выделенного возбудителя и локализацией инфекции.

Эффективность действия антибиотика на исследуемую культуру микроорганизма определяли по величине диаметров зон задержки роста бактериальной культуры (включая диаметр самих дисков) с помощью линейки (рис.1). При не резко очерченных краях зон или зонах с двойными контурами измеряли диаметр зоны по наиболее четкому контуру.

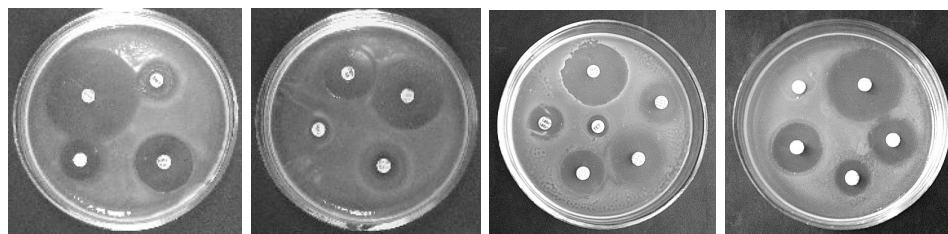


Рис.1. Зоны задержки роста культур, выделенных от дельфинов при действии различных антибиотиков (метод диффузии в агар).

Метод определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам с помощью дисков является качественным, позволяющим установить лишь факт чувствительности или устойчивости возбудителя инфекции к данному антибиотику.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

На базе научно-исследовательского центра «Государственный океанариум» с 2000 года проводилось изучение культур микроорганизмов-возбудителей инфекций, выделенных от дельфинов на чувствительность к различным антибиотикам. За весь период была исследована патогенная микрофлора у 26 животных и проведено 44 анализа.

При определении чувствительности культур, выделенных от больных особей из верхних дыхательных путей, нижних отделов кишечника, ротовой полости, с кожных покровов и из крови, был использован широкий спектр антибиотиков (от 4 до 15 видов для каждой культуры), принадлежащих к различным группам. Всего был опробован 31 вид антибиотиков.

В зависимости от полученных результатов, согласно методическим указаниям [15], микроорганизмы относили к одной из трех категорий: чувствительные, с промежуточной резистентностью или резистентные. В наших исследованиях мы определяли четыре степени чувствительности микроорганизмов к антибиотикам: высокую, среднюю, слабую и резистентную.

Степень чувствительности в любом случае должна оцениваться с двух позиций – микробиологической и клинической. С микробиологической точки зрения чувствительным считают микроорганизм, относящийся к наиболее чувствительной субпопуляции, не имеющий приобретенных механизмов резистентности и подавляемый низкими концентрациями антибиотика. Клиническая чувствительность микроорганизма определяется эффективностью применяемых антибиотиков при лечении вызванной им инфекции.

К категории резистентных относят бактерии, имеющие какой-либо механизм устойчивости. Эти микроорганизмы можно подразделить на умеренно или высоко резистентные. Клинически, при инфекции, вызванной такими штаммами, нет терапевтического ответа даже при использовании максимальных доз антибиотика.

В течение ряда лет определялась чувствительность к антибиотикам отдельных представителей и общей микрофлоры верхних дыхательных путей дельфинов, содержащихся в океанариуме. Антибиотические препараты подбирались в зависимости от состава микрофлоры и предполагаемого диагноза. Результаты представлены в Табл.1.

Как показали данные, высокая чувствительность микробных ассоциаций и отдельных представителей микрофлоры верхних дыхательных путей дельфинов была отмечена для 1–5 антибиотиков одновременно. Если применялись антибиотики группы цефалоспоринов (ЦТК, ЦФЛ) и близких к ним по свойствам фторхинолонов (ЦИП), то микроорганизмы обязательно оказывались высокочувствительными к 1–2 из этих препаратов. Следует отметить, что основными показаниями к назначению цефалоспоринов как раз и являются

Таблица 1

Чувствительность к антибиотикам отдельных представителей и микробных ассоциаций верхних дыхательных путей дельфинов

Состав микрофлоры	Используем. антибиотики	Чувствительность к антибиотикам			
		Высокая	Средняя	Слабая	Резистентность
<i>Staphylococcus aureus</i>	*ГЕН, S, АМП, Е, ЛЕВ, ПОЛ, R	Е	S, ГЕН, ЛЕВ	R, ПОЛ	АМП
**Г <sup>-</sup> палочки	ПЕН, ЦТК, НЕО, ЦИП, ЦФЛ, ПОЛ	ЦТК, ЦФЛ	–	–	ПЕН, ПОЛ, НЕО, ЦИП
Г <sup>-</sup> палочки, коринеформные, Enterobacteriaceae	АМП, ДОК, НЕО, ТЕТ, ГЕН, ПЕН, Е	АМП	ПЕН, ГЕН	НЕО, Е, ТЕТ	ДОК
Актиномицеты	ПЕН, L, Cw, Oх, K, Of, Va, Ci, Cz, ИКН	–	Ci, Of	Cw, K, Va, Cz, ИКН	ПН, L, Oх
Актиномицеты, коринеформные, <i>Staphylococcus</i>	АМП, ПОЛ, НЕО, ИКН, ПЕН, Cw, Ca, S, Of	Of, S	Cw, НЕО	Ca, ПОЛ	ИКН, ПЕН, АМП
Актиномицеты, коринеформные, <i>Staphylococcus</i>	АМП, Oх, Of, Cw, Ak	–	Cw, Of	Ak, АМП	Oх
Актиномицеты, коринеформные, <i>Streptococcus</i>	АМП, ЦФЛ, ПЕН, НЕО, ЛЕВ, ПОЛ, ТЕТ, ЦИП, Ak, Va, R, S, M, Oх, L, I, Ca, Cw	ЦИП, Ak, I, S	НЕО, Ca, ЛЕВ	ЦФЛ, R, ТЕТ, Cw, ПОЛ	M, L, Oх, Va, ПЕН, АМП
Enterobacteriaceae <i>Streptococcus</i> , коринеформные	ЦФТ, ЦТК, ЦИП, ЦФЛ, Ca, ЛЕВ, ТЕТ, Cw, L, ПОЛ, I, M, Ak, Oх	ЦТК, Of, ЦИП, Ak, I	–	ЦФЛ, ТЕТ, ПОЛ, M	Ca, ЦФТ, L, Cw, Oх
Коринеформные	ПЕН, ГЕН, НЕО, Фуз, АМП, S, Va, R, Е	–	АМП, НЕО, S	ГЕН, R	Фуз, Va, ПЕН, Е
Коринеформные иетракокки, <i>Vibrio</i>	ЦФЛ, ЦФТ, ЦТК, ЛЕВ, НЕО, Ak	ЦТК	НЕО, ЛЕВ	–	ЦФЛ, ЦФТ
Актиномицеты, коринеформные, <i>Streptococcus</i>	S, Е, ИКН, Cw, Of, ЦИП	S, Of, ЦИП	Е	ИКН, Cw	–
Неидентиф. микрофлора	ЦТК, ЦИП, Ak, Of	ЦТК, Ak,	–	Of	ЦИП

\* – ГЕН – гентамицин; S – стрептомицин; АМП – ампициллин; Е – эритромицин; ЛЕВ – левомицетин; ПОЛ – полимиксин; L – линкомицин; Oх – оксациллин; Cz – цефазолин; Of – офлоксацин; R – рифампицин; ТЕТ – тетрациклин; ЦТК – цефатоксим; K – канамицин; ЦФЛ – цефалексин; ЦФТ – цефалотин; ПЕН – бензилпенициллин; Фуз – фурагин; Фд – фуродонин; ДОК – доксициллин; НЕО – неомицин; ЦИП – ципрофлоксацин; Фуз – фузидин; Ci – цефтриаксон, ИКН – итраконазол, Cw – кларитромицин, Va – ванкомицин, Ca – цефтазидим, Ak – амикацин, I – имепенем, M – метициллин.

\*\* – грамотрицательная палочка

инфекции дыхательных путей, а также другие бактериальные заболевания и тяжелые гнойно-септические процессы. Кроме того, наряду с пенициллиновыми антибиотиками они являются наименее токсичными препаратами для теплокровных животных. Самыми широко применяемыми в медицинской практике являются цефалотин и цефазолин, обладающие широким спектром действия (в отношении стафилококков, стрептококков, некоторых коринеформных, бацилл и многих грамотрицательных микроорганизмов). Высокая чувствительность к стрептомицину (S) отмечалась в 3-х случаях применения из 4-х. Еще 5 микробных ассоциаций и штамм *Staphylococcus aureus* – были высоко чувствительны к другим антибиотикам (АМП, Е, Of, Ak, I). В 3-х случаях микрофлора в целом и отдельные ее представители не проявляли высокой чувствительности к исследованным препаратам.

Определение состава микрофлоры в процессе исследования показало, что у животных с более высоким микробным числом в дыхательном тракте часто присутствуют условно патогенные микроорганизмы, такие как протей. Была определена чувствительности 9 штаммов *Proteus*, выделенных из верхних дыхательных путей дельфинов, и 1 штамма, изолированного из нижних отделов кишечника к 7–15 антибиотикам. Результаты представлены в Табл.2

Как показали исследования, различные штаммы *Proteus* отличались по чувствительности к одним и тем же антибиотикам. Однако, как видно из таблицы, практически все штаммы были высокочувствительны к ципрофлоксацину или цефотоксиму, или к обоим препаратам одновременно.

Важным для диагностики заболеваний у дельфинов является исследование крови. Кровь здоровых животных и человека стерильна, так как она обладает сильным антимикробным свойством. Однако почти при всех инфекционных и воспалительных процессах у человека и животных в крови выявляется возбудитель заболевания и/или его токсин, что свидетельствует о развитии бактериемии или септициемии. Чаще всего обнаруживается бактериемия, которая является симптомом болезни и одной из её стадий [16]. Поэтому одним из методов диагностики и лечения инфекций является выделение возбудителя из крови и определение его чувствительности к тому или иному антибиотику.

Как показали наши исследования, в случаях бактериемии в крови у дельфинов обнаруживались *Pasteurella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp.*, дрожжи и коринеформные бактерии (табл. 3).

Полученные результаты показали, что каждый исследованный микроорганизм был высокочувствителен, как правило, к одному или двум антибиотикам. Только в одном случае отмечена высокая чувствительность к трем антибиотикам и еще в одном – к четырем препаратам.

Выделенные из крови микроорганизмы в трех случаях из девяти проявляли высокую чувствительность к антибиотику группы аминогликозидов (гентамицину) и в четырех случаях – к антибиотикам группы цефалоспоринов (цефалотину, цефалексину, цефатоксиму).

Таблица 2

Чувствительность к антибиотикам различных штаммов *Proteus*, выделенных из микрофлоры дельфинов

Откуда взят образец	Используем. антибиотики	Чувствительность к антибиотикам			
		Высокая	Средняя	Слабая	Резистентность
Верх. дых. пути	*ГЕН,S,АМП,Е,ЛЕВ, ПОЛ,R	ГЕН,S	ЛЕВ,АМП	Е,ПОЛ	R
	ЦТК,ЦФТ,ЦФЛ,ТЕТ, ГЕН,ДОК,ПОЛ,НЕО, Фд,Е,ЦИП	ЦИП,ГЕН	НЕО,Фд	ЦФЛ,ЦФТ, ЦТК	ТЕТ,ДОК, ПОЛ,Е
	ЦТК,ТЕТ,Фд,ДОК, ЦИП,ГЕН,НЕО,Е, ПОЛ,ЦФЛ,ЦТК, АМП,Фуз, Фг,ПЕН	ЦТК	ЦИП,НЕО	ГЕН,ЦФЛ, ЦФТ,ТЕТ, АМП,ПЕН	ДОК,Е, ПОЛ,Фуз, Фг,Фд
	—”—	ЦИП	ТЕТ,Е, Фд	Фг,НЕО, ГЕН,ПЕН	ЦТК,ДОК, ЦФЛ,ЦФТ, ПОЛ,Фуз, АМП
	ПОЛ,НЕО,ЦИП,Е, ГЕН,АМП,ЦТК	ЦТК	ГЕН, ЦИП	НЕО	Е,АМП, ПОЛ
	—”—	ЦТК	ГЕН	ЦИП,АМП	Е,НЕО, ПОЛ
	I,Ca,Of,Va,Ak,E,Ox,L, Cw,ЛЕВ,ТЕТ,ЦИП, ЦФТ,ЦТК,ЦФЛ,АМП	ЦТК,Of, Ca,S,Ak	ЦФЛ,I, ЦИП,ЛЕВ	ТЕТ	АМП,ЦФТ, Е,Va,Cw, L,Ox
	НЕО,АМП,ЦИП, ЦФЛ,ЦФТ,ЦТК, ЛЕВ,М, Va,Of, Ox, Ca,Cw, Ak, S	ЦИП,Of, ЦТК,Ak,S	Cw	НЕО,ЛЕВ, Va	АМП,ЦФЛ, ЦФТ,М, Ox,Ca
НЕО,АМП,ЦИП, ЦФЛ,ЦФТ,ЦТК, ЛЕВ,М, Va,Of, Ox, Ca,Cw, Ak, S	ЦИП,Of, ЦТК,Ak,S	НЕО,ЛЕВ	Va,Cw	АМП,ЦФЛ, ЦФТ,М, Ox,Ca	
Кишечник	ЦТК,ТЕТ,ДОК,ЦИП, ГЕН,НЕО,Е,ПОЛ, ЦФЛ,ЦТК,АМП,Фуз, Фг, Фд,ПЕН	ЦТК,ЦИП	ЦФЛ,ЦФТ	Фд,Фг,Е, ГЕН,НЕО, ТЕТ,Фуз	ПЕН,ПОЛ, ДОК,АМП

\* – смотри табл. 1

Таблица 3  
Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из крови больных дельфинов

Состав микрофлоры	Используем. антибиотики	Чувствительность к антибиотикам			
		Высокая	Средняя	Слабая	Резистентность
<i>Pasteurella sp.</i>	*ГЕН,Е,S,ПЕН,L, АМП,Ох,Cz,Of	ГЕН	Cz,Of	Ох,Е	S,ПЕН, L,АМП
<i>Staphylococcus aureus</i>	R,Of,Cz,АМП,Ох	R	Of,Cz	Ох	АМП
<i>Staphylococcus aureus</i>	ТЕТ,R,ГЕН,S,Е, ПОЛ,ЦТК,АМП,К	R,ГЕН	S,ЛЕВ, Е,ЦТК	ТЕТ, ПОЛ	К
Дрожжи	ТЕТ,R,ГЕН,S,Е, ПОЛ,ЦТК,АМП,К	ГЕН	ЦТК,Е	ТЕТ,R, ПОЛ	S,ЛЕВ, АМП,К
Коринеформные	Фг,ПЕН,АМП,ЦФТ, ПОЛ,ГЕН,Е	Фг	ЦФТ, АМП	ПЕН, ПОЛ	ГЕН,Е
<i>Staphylococcus sp.</i>	ГЕН,ПОЛ,АМП,ПЕН, Фг,ЦФТ,Е	ЦФТ	Фг	АМП, ПЕН, ГЕН,Е	ПОЛ
Дрожжи	ЦТК,ТЕТ,ДОК,ЦИП, ГЕН,НЕО,Е,ПОЛ, ЦФЛ,ЦТК,АМП, Фуз,Фг,ПЕН,Фд	ЦФТ	ЦТК, Фд, ЦФЛ, ЦИП,Фг, АМП, Фуз,ПЕН	ГЕН, ТЕТ, Е,ДОК, НЕО	ПОЛ
Неидентиф. Гр <sup>-</sup> палочки	ЦТК,ТЕТ,ДОК,ЦИП, ГЕН,НЕО,Е,ПОЛ, ЦФЛ,ЦТК,АМП, Фуз,Фг,ПЕН,Фд	Фуз,Е, ЦТК,	ЦИП,ЦФТ ДОК,ЦФЛ АМП, ТЕТ, ПЕН	Фд,ГЕН, Фг,НЕО, ПОЛ	–
Дрожжи, шт. 43/6	ПЕН,АМП,ЦТК, ЦФЛ,ЦФТ,ЦИП,ТЕТ	ПЕН,АМП ЦФТ,ЦФЛ	ЦТК,ТЕТ, ЦИП	–	–

\* – смотри табл. 1

Особого внимания заслуживает микрофлора кишечника, имеющая огромное значение в процессе жизнедеятельности организма. Результаты наших исследований показали, что в состав микрофлоры кишечника дельфинов, как и у человека, входят полезные бифидобактерии и лактобактерии, а также условно патогенные микробы (кишечная палочка, стрептококки, дрожжевые грибы и т. д.) [17].

Нами была определена чувствительность 2 штаммов *Salmonella sp.* и одного штамма *Proteus mirabilis*, выделенных из кишечника больных дельфинов. Результаты исследований представлены в Табл. 4.



Таблица 4

Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из нижних отделов кишечника больных дельфинов

Состав микрофлоры	Используем. антибиотики	Чувствительность к антибиотикам			
		Высокая	Средняя	Слабая	Резистентность
<i>Salmonella sp.</i>	*ЦТК, ТЕТ, ДОК, ЦИП, ГЕН, НЕО, Е, ПОЛ, ЦФЛ, ЦТК, АМП, Фуз, Фг, ПЕН, Фд	ЦТК	Фд, ЦФЛ, ТЕТ, Фг	ЦФТ, ПОЛ, АМП, ГЕН, ДОК,	Фуз, ПЕН, Е, ЦИП, НЕО
—”—	—”—	ЦТК, ЦИП	Фг, ЦФТ, АМП, Фд, ЦФЛ	НЕО, ДОК, ПОЛ	Фуз, ТЕТ, ПЕН, Е, ГЕН
<i>Proteus mirabilis</i>	—”—	ЦТК, ЦИП	ЦФЛ, ЦФТ	Фд, Фг, ГЕН, Фуз, НЕО, Е, ТЕТ	ПЕН, ПОЛ, ДОК, АМП

\* – смотри табл. 1

Как показали результаты исследований, самой высокой бактерицидной активностью для данных штаммов микроорганизмов обладали цефатоксим (по химической природе близкий к цефалоспориновым антибиотикам) и ципрофлоксацин (из группы фторхинолонов).

Следует учитывать, что бессистемное применение антибиотиков у животных, как и у человека, может привести к нарушению кишечной микрофлоры, и тогда условно патогенные микроорганизмы становятся опасными. Так как нормальная микрофлора кишечника очень чувствительна к медикаментозному воздействию, важно правильно подбирать антимикробные средства. Например, одни антибиотики (ампициллин, карбенициллин, аминогликозиды, тетрациклины, левомицетин, линкомицин) вызывают значительные нарушения состава нормальной микрофлоры, в то время как другие (сульфаниламиды, феноксиметилпенициллин, макролиды, хинолины) действуют избирательно [18, 19]. Поэтому параллельно с определением чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекций, независимо от их локализации, необходимо проводить исследования чувствительности к этим препаратам общей микрофлоры кишечника.

Морские животные, в частности дельфины, часто страдают от всевозможных кожных заболеваний. Это связано как с особенностью строения кожи животных, так и с экологическим неблагополучием морской среды. Попадание патогенной и условно патогенной микрофлоры на раневую поверхность может привести к общей инфекции, или осложнить течение местных гнойных заболеваний. Наиболее частыми источниками являются абсцессы кожных покровов. Так, например, стафилококковые бактериемии разделяют на первичные (возбудитель проникает с

кожных покровов) и вторичные (из очага существующей инфекции). Кожные поражения могут быть также следствием внутренних инфекционных процессов [20].

Была исследована чувствительность к 5–8 антибиотикам 5 штаммов микроорганизмов, выделенных из кожных поражений дельфинов, обитающих в океанариуме. Результаты представлены в Табл. 5.

**Таблица 5**  
**Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из кожных поражений дельфинов**

Наименование микроорганизма	Используем. антибиотики	Чувствительность к антибиотикам			
		Высокая	Средняя	Слабая	Резистентность
Шт. 59/12	*ГЕН,ДОК,ПЕН,НЕО	–	–	–	ГЕН,ДОК, ПЕН,НЕО
Шт. 60/13	ГЕН,ДОК,ПЕН,НЕО	–	–	–	—”—
Актиномицет	НЕО,ПОЛ,ЦИП,АМП, ПЕН,ГЕН,Фуз,Фг	ЦИП	ПОЛ,НЕО ГЕН,Фг	АМП,Фу 3 ПЕН,	–
Актиномицет	НЕО,ПОЛ,ЦИП,АМП	ЦИП	ПОЛ,НЕО	АМП	–
<i>Staphylococcus sp.</i>	Сi,S,ПЕН,Ср,ИКН	–	Сi,S, Ср	ПЕН	ИКН

\* – смотри табл. 1

Как видно из таблицы, самым эффективным антибиотиком для двух штаммов актиномицетов, выделенных из кожных поражений дельфинов, являлся ципрофлоксацин. Штамм *Staphylococcus sp.* не проявлял высокой чувствительности ни к одному из 5 исследованных антибиотиков. Штаммы 59/12 и 60/13, не ясного систематического положения, были полностью не чувствительны к примененным антибиотикам.

Кроме того, проводились исследования чувствительности к антибиотикам доминирующей микрофлоры, выделенной из патологического материала погибших животных, а также микробных ассоциаций, взятых с конъюнктивы глаза и со слизистой оболочки рта при диагностировании конъюнктивита и стоматита соответственно. Результаты представлены в Табл.6.

Как видно из таблицы, микрофлора, обсеменяющая конъюнктиву глаза, чувствительна одновременно к 2–5 антибиотикам различных групп, микрофлора ротовой полости – к группе цефалоспоринов, а микроорганизмы, выделенные из патологического материала, не показали высокой чувствительности ни к одному из 10 опробованных препаратов.

Таблица 6

Чувствительность к антибиотикам культур микроорганизмов, выделенных от больных и погибших дельфинов

Откуда взят образец	Микроорганизм	Используем. антибиотики	Чувствительность к антибиотикам			
			Высокая	Средняя	Слабая	Резистентность
Мазок из глаза	Актиномицеты	*ПЕН,ЛЕВ,ПОЛ,ТЕТ, S,Of,Ca,Ak,Ox,Cw	ЛЕВ,Of	ТЕТ,S, Ca,Ak	ПОЛ, Cw	ПЕН, Ox
	<i>Vibrio sp.</i>	ЦФЛ,ЦФТ,ЦТК,ЛЕВ, НЕО,Ak,ПОЛ,Е,ТЕТ, Фуз	ЦТК, ЛЕВ, НЕО,ТЕТ Ak	ЦФТ,Е, ЦФЛ	ПОЛ	Фуз
Ротовая полость	Enterobacteriaceae, шт. 25/3	ЦФТ,ЦТК,НЕО, ЦИП,АМП	ЦФТ, ЦТК	НЕО, ЦИП	–	АМП
Пат. материал	Коринеформные	АМП,ТЕТ,Cw,S,E, Cp,Of, Ci,R,ЦИП	–	Of, Ci, ЦИП	АМП,R, ТЕТ,S,	Cw,E, Cp

\* – смотри табл. 1

В заключение следует отметить, что на сегодняшний день не существует методов, позволяющих с абсолютной достоверностью прогнозировать клинический эффект антибиотиков при лечении инфекционных болезней. Для этого необходимо проводить сравнительный анализ данных лабораторного исследования и клинических показателей течения заболевания в динамике, а также учитывать возможную смену возбудителя и, особенно, изменение его чувствительности к антибиотику [21]. Кроме того, чувствительность возбудителей к препаратам может варьировать в широких пределах в зависимости от региона, времени применения определенных антибиотиков, от состояния макроорганизма и других факторов. Реакция органов и тканей или организма в целом на введенный препарат зависит также от химических особенностей действующего вещества и от его взаимодействия с теми или иными реагирующими органами [22].

#### ВЫВОДЫ

1. Определение чувствительности возбудителей инфекционного процесса к антибиотикам является важным лабораторным методом, на основе которого осуществлялся выбор оптимального препарата и тактики антибиотикотерапии у дельфинов в условиях океанариума.
2. Результаты лабораторных исследований чувствительности к антибиотикам *in vitro* позволяют подобрать соответствующий препарат, воздействующий на возбудителя инфекции конкретного животного и тем самым повысить эффективность его лечения.

3. Данные лабораторных исследований свидетельствуют, что условно патогенная микрофлора дельфинов, содержащихся в океанариуме, наиболее чувствительна к антибиотикам группы циклоспоринов.

#### Список литературы

1. Вуд Ф.Г. Морские млекопитающие и человек / Ф.Г. Вуд. – Л.: Гидрометеиздат, 1979. – 261 с.
2. Сыкало А.И. К вопросу о критерии отбора черноморских афалин по инфекционной устойчивости / А.И. Сыкало, Н.Н. Кравцевич // 9 Всесоюз.совещ. по изучению, охране и рациональному использованию морских млекопитающих, Архангельск, 9 – 11 сент. 1986 г.: тезисы докл. – Архангельск, 1986. – С. 377–378.
3. Buck J.D. Microbiological characterization of three Atlantic whiteside dolphins (*Lagenorhynchus acutus*) from standing through captivity with subsequent rehabilitation and release on the animal / J.D. Buck, P.M. Bubucis, S. Spott // Zoo-Biol. – 1988. – V.7. – №2. – P. 133–138.
4. Dunn J.L. Bacterial and mycotic diseases of cetaceans and pennipeds / J.L. Dunn // Handbook of marine mammals medicine: health, disease and rehabilitation [L.A.Dierauf, ed.]. – CRC Press LLC, 1990. – P. 73–96.
5. Higgins R. Bronchopneumonia caused by *Streptococcus egui* in a North atlantic pilot whale (*Globicephala melanaea*) / R. Higgins, R. Clavean, R. Roy // J.of Wildl.Dir. – 1980. – V.16. – №3. – P. 319–321.
6. Sweeney J.C. Common diseases of small cetaceans / J.C. Sweeney, S.M. Ridgway // J.Am.Vet.Med.Assoc. – 1975. – V.167. – P. 523–545.
7. Harzen S. Skin disorders in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) resident in the Sado Estuary, Portugal / S. Harzen, B.J. Brunnick // Aquat.-Mamm. – 1997. – V.23, №1. – P. 59–68.
8. Белькович В.М. Вопросы отлова и длительного содержания дельфинов в неволе / В.М. Белькович, В.С. Гуревич // Исследование морских млекопитающих. – Калининград, 1971. – Вып. XXXIX. – С. 286–295.
9. Health problems of captive dolphins and seals / D.H. Brown, R.W. McIntyre, C.A. Dilli Quadri [et al.] // J.Am.Vet.Med.Assoc. – 1960. – 137. – P. 534–538.
10. Medway W. Some bacterial and mycotic diseases of marine mammals / W. Medway // J.Am.Vet.Med. – 1980. – 177. – P. 183.
11. Some microbial and parasitic diseases of captive black sea dolphins / E. Mici, G. Plotoaga, A. Bologa [et al.] // Natural Science Museum Constanta. – 1992. – P. 177–182.
12. Воронков А.С. Лечение и содержание афалин в неволе / А.С. Воронков // Морские млекопитающие: X Всесоюз.совещ. по изуч., охране и рац.исп. морских млекопитающих, г.Светлогорск Калининградской обл., 2 – 5 окт. 1990 г.: тезисы докл. – М., 1990. – С. 65–66.
13. Глазко В.И. Русско-англо-украинский толковый словарь по прикладной генетике, ДНК – технологии и биоинформатике / В.И. Глазко, Г.В. Глазко – Київ: КВЦ, 2001. – 588 с.
14. Маянский А.Н. Микробиология для врачей (очерки патогенетической микробиологии) / А.Н. Маянский. – Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 1999. – 400 с.
15. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков. – М., 1983. – 15 с.
16. Андреева Н.А. Клинические показатели крови дельфинов-афалин при бактериемии / Н.А. Андреева, М.О. Сергиевская, В.Ф. Патыка // Сільськогосподарська мікробіологія. – 2007. – Вип. 6. – С. 141–147.
17. Гитун Т.В. Дисбактериоз – как восстановить свое здоровье / Т.В. Гитун. – Из-во РИПОЛ Классик, 2008. – 64 с.
18. Компендиум. Лекарственные препараты 2001/2002. – К.: Морион, 2000. – 1102 с.
19. Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия / Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепяхин В.К. – М.: "Универсум Паблишинг", 2000. – 531 с.
20. Микрофлора окружающей среды и тела человека / [Литусов Н.В., Сергеев А.Г., Григорьева Ю.В., Иштунова В.Г.] // Учебное пособие. – Екатеринбург, 2008. – 28 с.
21. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров // Учебник (изд. 6-е). – М.: Из-во: МГУ, 2004. – 528 с.

22. Яковлев В.П. Рациональная антимикробная фармакотерапия / В.П. Яковлев, С.В. Яковлев // Учебное пособие. – Из-во Литтерра, 2003. – 1008 с.

**Андреева Н.О. Чутливість до антибіотиків умовно патогенної мікрофлори дельфінів афалін (*Tursiops truncatus*), які утримуються в севастопольському океанаріумі / Н.О. Андреева, Т.В. Остапчук, О.В. Ліскун // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 50-61.**

Наведено багаторічні результати досліджень чутливості до антибіотиків мікрофлори дельфінів, які утримуються в умовах океанаріуму. Показано високу сприйнятливість умовно патогенних мікроорганізмів до препаратів групи циклоспоринів. Отримані дані дозволяють здійснювати вибір оптимального препарату і розробляти індивідуальні тактики антибіотикотерапії.

**Ключові слова:** чутливість до антибіотиків, умовно патогенна мікрофлора, дельфін афаліна.

**Andreeva N.A. Antibiotic sensitivity of opportunistic pathogenic microflora of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) kept in Oceanarium conditions / N.A. Andreeva, T.V. Ostapchuk, O.V. Liskun // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 50-61.**

The results of long-term research on antibiotic sensitivity of microflora of dolphins kept in Oceanarium conditions are given here. High sensitivity of opportunistic pathogenic microorganisms to cyclosporines has been revealed. The obtained results make it possible to choose an optimal medicine and develop individual tactics of antibiotic therapy.

**Keywords:** sensitivity to antibiotics, opportunistic pathogenic microflora, bottlenose dolphin.

*Поступила в редакцію 26.05.2011 г.*

**УДК 613.644**

## **ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ**

*Баличиева Д.В.*

*Республиканское высшее учебное заведение «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина  
E-mail: kirubiology@gmail.com*

В статье представлены данные о влиянии вибрации на белковый и аминокислотный обмен в организме экспериментальных животных при воздействии общей вибрации. Выявлены нарушения в обмене белков и метаболизме аминокислот, связанные со сдвигами в азотистом обмене при вибрационном воздействии.  
**Ключевые слова:** вибрация, белковый обмен, аминокислоты.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Из всех органических веществ, входящих в состав живых организмов, наиболее важными в биологическом отношении и наиболее сложными по структуре являются белки (белки составляют 20%, жиры – 14,7%, неорганические соли – 4,9%, нуклеиновые кислоты – 1,0%, углеводы – 1,0%). Учитывая многообразие функций белков в организме (каталитическая, структурная, энергетическая, транспортная, передача наследственности, защитная, регуляторная) изучение состояния белкового обмена при воздействии различных факторов окружающей среды представляет значительный интерес.

Широкое распространение вибрационного фактора, имеющаяся тенденция к увеличению контингента работающих, подвергающихся воздействию вибрации рабочих мест и комплекса факторов производственной среды, значительный потенциальный ущерб от его неблагоприятного действия на организм и обуславливает большую социальную значимость данной проблемы. Это и послужило основанием для выбора действующего фактора – вибрации для настоящих исследований.

Литературные данные о влиянии вибрации на организм работающих многочисленны [1]. Рядом исследователей у лиц виброопасных профессий было установлено нарушение деятельности различных систем организма, которые позднее нашли подтверждение и в экспериментальных работах на животных [2–5]. Однако, сведений о влиянии вибрации на показатели белкового обмена, которые являются основой различных процессов в организме, весьма ограничены.

Цель исследований – изучение белкового обмена в организме экспериментальных животных при воздействии физических факторов производственной среды – общей вибрации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведены 2 серии опытов на 30 белых крысах. В эксперименте были использованы половозрелые крысы популяции Вистар, весом 220–250 г. Животные были разделены на 2 группы:

1 группа – животные, подвергавшиеся воздействию вибрации;

2 – контрольная группа животных, которые находились в одинаковых условиях ухода, питания и внешней среды с животными «основных» групп, но не подвергавшихся воздействию вибрации.

Животные подвергались воздействию общей вертикальной синусоидальной вибрации частотой 20 Гц с виброскоростью 126 дБ, создаваемой установкой «Стенд-4» и «СТ-300», по 4 часа ежедневно в течение 8 недель.

Дозу вибрации (ДВ) рассчитывали по формуле, разработанной Баличиевой Д.В. и Денисовым Э.И. [1].

При анализе данных использованы уровни суммарной дозы вибрации, как отражающей накопленную дозу вибрационного воздействия. При этом эти показатели по своему физическому смыслу аналогичны экспозиции широко внедряемой в международных стандартах ИСО для шума и вибрации.

К важнейшим показателям белкового обмена относится содержание общего белка в плазме крови, распределение его по отдельным фракциям и определение аминокислот, главной структурной составляющей белков. Общий белок в плазме крови определяли на рефрактометре «ИРФ-22», белковые фракции – методом электрофореза на бумаге [4], содержание аминокислоты в сыворотке крови на автоматическом анализаторе аминокислот «ААА-881».

Результаты исследований подвергнуты стандартной статистической обработке с вычислением средней арифметической ( $M$ ) и ее ошибки ( $m$ ). Оценка достоверности разности сравниваемых величин велась с вычислением коэффициента и определение процента достоверности по таблице Стьюдента [6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

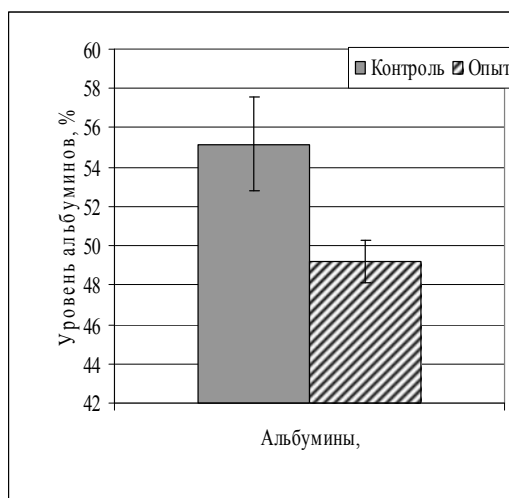
Успешное решение вопросов механизма воздействия общей вибрации во многом зависит от понимания изменений в обменных процессах, развивающихся в организме, в частности, обмене белков, аминокислот. В связи с тем, что белки являются количественно самыми важными составляющими всего живого, в особенности высокоорганизованных организмов, образуя основной материал клеток, проведены исследования по выяснению характера изменений белкового обмена при экспериментальном воздействии вибрации.

Результаты исследований показали, что при вибрации с параметрами ( $f = 35$  Гц,  $L_v = 126$  дБ) • 4 ч. по истечении 8-недельного воздействия ( $УСДВ=150$  дБ) значительных изменений в содержании общего белка (табл. 3) не выявлено, показатели в опытной группе составили  $6,18 \pm 0,11\%$ , а в контрольной –  $6,35 \pm 0,1\%$ . Однако, в содержании белковых фракций выявлено достоверное снижение альбумина (от 55,18 до 49,20 %), а также повышение фракций  $\alpha$ - и  $\gamma$ - глобулинов (табл. 1, рис. 1).

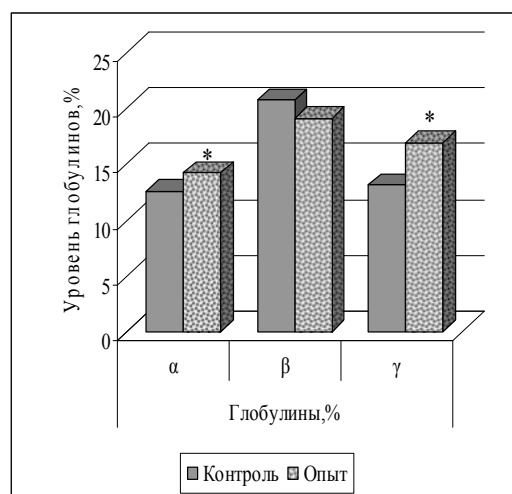
Таблица 1.

Показатели белкового обмена при воздействии вибрации с параметрами  
/ ( $f=35$  Гц,  $L_v - 126$  дБ) • 4 ч./, при УСД =150 дБ

Группы, статистические показатели	Общий белок, %	Белковые фракции			
		Альбумины, %	Глобулины, %		
	М ± m				
Контроль	6,35±0,13	55,18±2,4	12,56±0,21	20,71±0,4	13,13±0,70
Опыт	6,18±0,11	49,20±1,10	14,20±0,63	19,1±1,20	16,9±0,44
P	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05



а)



б)

Рис. 1. Изменение содержания альбуминов (а) глобулинов (б) при воздействии вибрации с УСД =150 дБ ( $p < 0,05$ )

Можно предположить, что уменьшение альбуминов тесно взаимосвязано с обменом аминокислот, в частности с такой аминокислотой как триптофан, необходимой для синтеза никотиновой кислоты (PP), образования сывороточных белков и синтеза гемоглобина. Триптофан является еще и ростовым фактором, чем моложе организм, тем выше потребность в триптофане. По-видимому, этим и объясняется нарушение прироста массы тела растущих крыс при длительном воздействии вибрации [1].

Известно, что аминокислоты в живом организме структурными компонентами белков и других биологически активных соединений. Вместе с тем они часто используются как источник энергии. Организм высших животных активно окисляет как экзогенные аминокислоты, образующиеся из перевариваемых пищевых белков,



так и эндогенные аминокислоты, источником которых служат процессы метаболического обновления самого организма.

Результаты исследований показали, что к концу эксперимента наблюдалось снижение содержания общих аминокислот в сыворотке крови экспериментальных животных (рис. 2).

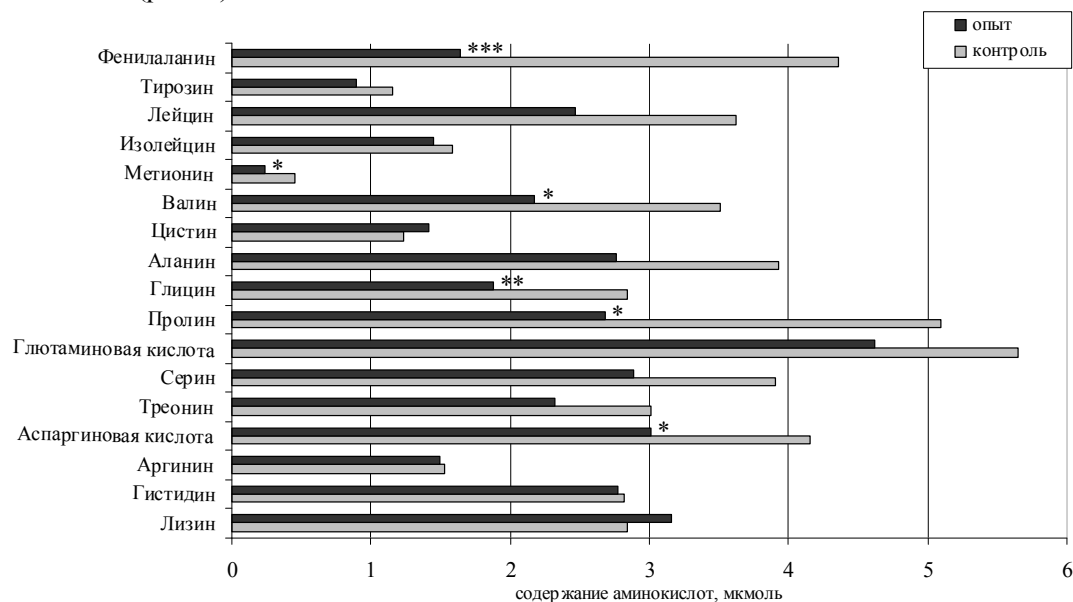


Рис. 2. Динамика изменения содержания аминокислот при воздействии вибрации с УСД = 150 дБ (достоверность (P): \* – 0,05; \*\* – 0,01; \*\*\* – 0,001).

На общем фоне снижения аминокислот отмечено достоверное уменьшение количества аспарагиновой кислоты ( $P < 0,05$ ), пролина ( $P < 0,05$ ), глицина ( $P < 0,01$ ), валина ( $P < 0,05$ ), метионина ( $P < 0,05$ ) и фенилаланина ( $P < 0,001$ ).

Следует отметить, что, в основном, наблюдается уменьшение числа гидрофобных (неполярных) аминокислот (валин, пролин, фенилаланин и метионин) и незначительно полярных не заряженных, а также отрицательно заряженных (аспарагиновая кислота). Обращает на себя особое внимание снижение уровня метионина, который участвует в жировом обмене в организме (регулируя обмен жиров-фосфатидов) и является одним из лучших липотропных веществ, т.е. веществ, предупреждающих ожирение печени. Метионин является лучшим донатором метильных групп синтеза холина – этого антисклеротического фактора. При воздействии вибрации наблюдается также снижение уровня лизина, который тесным образом связан с кроветворением, при его недостатке уменьшается число эритроцитов и количество гемоглобина. Кроме того, при его недостатке отмечается нарушение кальцификации костей, истощение мышц [2].

Наблюдаемые определенные нарушения в обмене белков и метаболизме аминокислот возможно связаны также со сдвигами в азотистом обмене, отмечаемом некоторыми исследователями [4, 7] при вибрационном воздействии.

## ВЫВОДЫ

1. При воздействии вибрации с УСД =150 дБ отмечается достоверное ( $P < 0,05$ ) снижение альбуминов и повышение белковых фракций  $\alpha$ - и  $\gamma$ -глобулинов в плазме крови экспериментальных животных, что тесно взаимосвязано с обменом аминокислот.
2. Наряду с некоторыми сдвигами в белковом обмене, вертикальная синусоидальная вибрация вызывает определенные нарушения в метаболизме аминокислот. На общем фоне снижения аминокислот отмечено достоверное уменьшение количества аспарагиновой кислоты ( $P < 0,05$ ), пролина ( $P < 0,05$ ), глицина ( $P < 0,01$ ), валина ( $P < 0,05$ ), метионина ( $P < 0,05$ ) и фенилаланина ( $P < 0,001$ ).
3. Вибрация с УСД = 150 дБ вызывает, в основном, снижение в организме числа гидрофобных (неполярных) аминокислот (валин, пролин, фенилаланин и метионин), а также отрицательно заряженных (аспарагиновая кислота).
4. При воздействии вибрации наблюдается достоверное снижение уровней метионина и лизина, которые тесным образом связаны с жировым обменом и кроветворением.

## Список литературы

1. Баличиева Д.В. Сравнительная биологическая оценка вибрационно-шумового воздействия в зависимости от дозы вибрации в эксперименте / Д.В. Баличиева, Э.И. Денисов // Медицинский журнал Узбекистана. – 1979. – № 12. – С. 50–53.
2. Баличиева Д.В. К эмбриотропному действию общей вибрации / Д.В. Баличиева // Ученые записки Крымского государственного инженерно-педагогического университета. Выпуск 5. – 2004. – С. 64–67.
3. Говалло В.И. Иммунология репродукции / В.И. Говалло. – М.: Медицина. – 1987. – 300 с.
4. Гурвич А.К. Определение белковых фракций в сыровотке крови методом электрофореза на бумаге / А.К. Гурвич // Лабораторное дело. – 1955. – № 3 – С. 3.
5. Баличиева Д.В. Особенности биологического действия вибрации на некоторые гематоиммунологические показатели организма экспериментальных животных / Д.В. Баличиева // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 3. – С. 15–20.
6. Плохинский Н.А. Биометрия / Плохинский Н.А. – М.: МГУ, 1970. – 367 с.
7. Дрогичина Э.И. К клинике вибрационной болезни, вызванной воздействием общей вибрации / Э.И. Дрогичина, Н.В. Метлина // Гигиена труда и профзаболевания. – 1962. – № 7. – С. 19–22.

**Балічєва Д.В. Вивчення білкового обміну в організмі експериментальних тварин при впливі фізичних факторів виробничого середовища / Д.В. Балічєва // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 62-66.**

У статті представлені дані про вплив вібрації на білковий і амінокислотний обмін в організмі експериментальних тварин при дії загальної вібрації. Виявлено порушення в обміні білків і метаболізмі амінокислот, пов'язані зі зрушеннями у азотистому обміні при вібраційному впливі.

**Ключові слова:** вібрація, білковий обмін, амінокислоти.

**Balichiyeva D.V. Study of protein metabolism in the body of experimental animals exposed to physical environment factors / D.V. Balichiyeva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 62-66.**

The article presents data on the effect of vibration on protein and amino acid metabolism in the body of experimental animals exposed to general vibration. Disturbances in the metabolism of proteins and amino acid metabolism associated with shifts in nitrogen metabolism during exposure.

**Keywords:** vibration, protein metabolism, amino acid.

*Поступила в редакцію 16.05.2011 г.*

**УДК 504.42:579.26 (262.5)**

## **ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА БАКТЕРИЙ В РАЙОНЕ ПОСТУПЛЕНИЯ ЛИВНЕВОГО СТОКА В БУХТУ КАЗАЧЬЮ (ЧЁРНОЕ МОРЕ)**

*Беляева О.И.*

*НИЦ Вооруженных Сил Украины «Государственный океанариум», г. Севастополь, Украина  
E-mail: olgabelyaeva@yandex.ru*

Представлены данные по определению численности и биомассы бактерий в районе поступления ливневых стоков в бухту Казачью. Наиболее эвтрофированным являлся прибрежный участок бухты. Зарегистрировано два пика численности бактерий: максимальный весной и менее выраженный - осенью. Высокая общая численность бактерий наблюдалась в зимний период при массовом скоплении медуз *Aurelia aurita*.

**Ключевые слова:** бактериопланктон, ливневый сток, Черное море.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Ливневые стоки являются одним из существенных источников загрязнения прибрежной зоны моря. Химический аспект загрязнения ливневых стоков рассмотрен во многих исследованиях [1–3]. Однако ливневые стоки, поступая в прибрежную зону моря, влияют не только на химическое состояние акватории, но и на бактериологический режим. Часть поверхностных ливневых стоков содержат патогенные бактерии фекального происхождения [2], другие – не имеют.

Бухта Казачья является одной из чистых бухт Севастопольского региона [3, 4]. На западном берегу бухты расположены два локальных источника нефтяного загрязнения – автопарк и котельная. Ливневые стоки, проходя через промышленные площадки этих объектов, доставляют в акваторию различные органические соединения, мусор. Источников фекального загрязнения на берегу бухты нет. В настоящее время микробиологических исследований акватории в районе поступления ливневых стоков, не имеющих фекального загрязнения, не проводилось. Цель работы - изучить микробиологическое состояние бухты Казачья в районе влияния ливневых стоков.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Микробиологические исследования акватории бухты Казачьей в районе поступления трех ливневых стоков проводились с периодичностью 1-2 раза в месяц в течение 2003–2006 гг. Схема расположения станций представлена на Рис. 1. Микробиологический анализ ливневых стоков осуществлялся на 8 береговых станциях, морские исследования – на 8 морских станциях. Стоки I и II имели береговой источник нефтяного загрязнения, сток III (контрольный) – не имел.

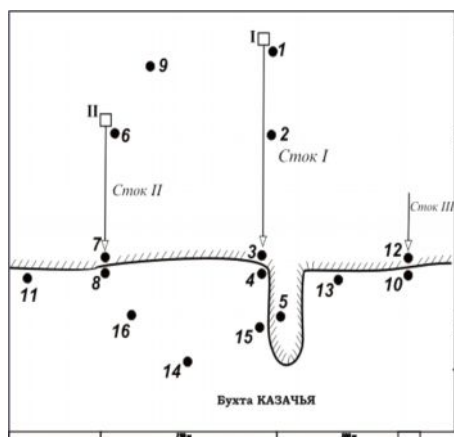


Рис. 1. Схема расположения станций:

I □ - источник загрязнения; 4 ● – станция отбора проб.

Пробы морской воды отбирали с поверхностного микрослоя (150 - 200 мкм) собирателем бактерионейстона, поверхностного слоя (0,5 м) – винипластовым батометром, донные осадки – с помощью стальной трубки [5].

Определение общей численности бактерий проводили методом Разумова, который заключался в прямом счете окрашенных бактериальных клеток под микроскопом [5]. Для анализа использовали мембранные фильтры марки Synrog-7 с диаметром пор 0,3 мкм. При микроскопии использовали фазовый контраст с масляной иммерсией и увеличением в 900 раз. Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий определяли методом предельных разведений. Гетеротрофные бактерии выращивали на рыбопептонном бульоне, углеводородокисляющие бактерии – на среде Диановой-Ворошиловой [6].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В морской воде бухты Казачьей были впервые определены общая численность (ОЧБ) и биомасса бактериопланктона, которые в среднем составили соответственно  $2,0 \times 10^6$  клеток/мл и  $0,23 \text{ г/м}^3$ . Поскольку бухта Казачья входит в систему бухт Севастополя, был проведен сравнительный анализ показателей ОЧБ в морской воде Казачьей и Севастопольской бухт. Установлено, что ОЧБ в бухте Казачьей была в 1,5 - 2 раза ниже аналогичных показателей для Севастопольской бухты, что говорит о хорошем экологическом состоянии изучаемой бухты [7]. Общая численность бактерионейстона ( $2,98 \times 10^6$  клеток/мл) была в 1,5 раза больше численности бактериопланктона.

В морской воде в районах поступления стоков I и II средние значения ОЧБ составили  $2,2 \times 10^6$  клеток/мл, биомассы –  $0,27 \text{ г/м}^3$ . На контрольной станции в районе поступления стока III отмечены более низкие ОЧБ и биомасса –  $1,64 \times 10^6$  клеток/мл и  $0,17 \text{ г/м}^3$ . Таким образом, наиболее высокие значения исследуемых показателей отмечены в районах поступления загрязненных стоков.

Микробиологические исследования проведены также в ливневых стоках, поступающих в акваторию бухты Казачьей. В стоках ОЧБ в среднем составила  $4,8 \times 10^6$  клеток/мл, биомасса –  $0,9 \text{ г/м}^3$ . В ливневой воде численность и биомасса бактерий были соответственно в 2 и 4,5 раза больше, чем содержание бактерий в морской воде. Следовательно, ливневые стоки доставляют в акваторию значительное количество бактерий.

Бактерии, выделенные из ливневой и морской воды, были представлены кокковидными и палочковидными формами. Объем кокков составил  $0,25 \text{ мкм}^3$ , палочек –  $1,2 \text{ мкм}^3$ . Известно, что интенсивный рост численности бактерий в Чёрном море существенно замедлился, но структурные изменения микробиологического сообщества продолжают продолжаться, что нашло отражение в вытеснении кокковидных форм палочковидными формами [8]. При этом известно, что кокковые формы преимущественно используют легкоусвояемое, а палочковидные – трудноусвояемое вещество, а соотношение численности данных структурных групп бактерий является показателем микробной сукцессии. Результаты исследований показали, что ливневые стоки приносили в морскую воду равное количество палочек и кокков, и подтвердили сведения о стабильном преобладании в пробах морской воды палочек над кокками, соотношение которых составило 85 : 15. Кроме основных форм бактерий пробы морской воды содержали нитевидные бактерии, крупные клетки с длинными жгутиками, овальные клетки с темной полосой посередине, овальные клетки с биполярной зернистостью. Указанные формы микроорганизмов являются типичными обитателями сероводородной зоны Чёрного моря и поступают в кислородную зону благодаря водообмену между глубинными и поверхностными слоями моря. В морской воде также встречались длинные нитчатые и овальные водоросли, скелеты диатомовых водорослей, незначительное количество детрита. Обеднение морской воды детритом еще раз свидетельствует о хорошем качестве воды изучаемой акватории. Рассчитана биомасса бактерий бухты Казачьей – 3,94 тонн.

В морской воде средняя численность гетеротрофных сапрофитных бактерий на станциях 4 и 8, куда поступали ливневые стоки I и II, составила  $9,5 \times 10^2$  клеток/мл, на контрольной 10-й станции она была меньше –  $2,5 \times 10^2$  клеток/мл. На станциях 15 и 16, удаленных от места впадения ливневых стоков, численность бактерий снижалась до  $2,0 \times 10^2$  клеток/мл (табл. 1). Это свидетельствует о том, что в морской воде у берега содержится больше органических соединений, так как концентрация сапрофитных бактерий является показателем наличия легкоокисляемого органического вещества. Концентрация нефтеокисляющих бактерий, минерализующих нефтяные углеводороды, была невысокой и в среднем составила 15 клеток/мл. Таким образом, установлена весьма низкая численность нефтеокисляющих бактерий, а наибольшее количество этих бактерий регистрировалось в районе поступления ливневых стоков I и II, поставляющих в акваторию нефтепродукты. В морской воде между численностью гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий прямой зависимости коэффициентов корреляции не обнаружено ( $r=0,13$ ).

В результате изучения годовой динамики численности гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в бухте Казачьей выявлены два пика: максимальный –

весенний и менее выраженный – осенний. Таким образом, бактерии наиболее активно развиваются в весенний период, тогда как в районах больших городов с развитой промышленной и портовой инфраструктурой, где прибрежные акватории испытывают мощные нагрузки загрязнения со стороны суши, вспышка развития бактерий смещена на позднее лето и начало осени [8, 9].

**Таблица 1.**  
**Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в морской воде**

№№ станций	Численность бактерий, клеток/мл	
	Гетеротрофные бактерии	Нефтеокисляющие бактерии
4, 8	$\frac{2,5 \times 10^2 - 2,5 \times 10^3}{4,5 \times 10^2}$	$\frac{0,4 - 95}{4,5}$
11, 13 – 16	$\frac{95 - 1,5 \times 10^3}{9,5 \times 10^2}$	$\frac{0 - 15}{9,5}$
10	$\frac{4,5 \times 10^2 - 4,5 \times 10^4}{9,5 \times 10^3}$	$\frac{4,5 - 2,5 \times 10^2}{9,5}$

\*- в числителе – пределы колебания показателя; в знаменателе - среднее значение

Наиболее высокие значения общей численности бактериопланктона отмечали в декабре 2004 г. при температуре морской воды 9°С. На станциях 4 и 8 этот показатель составил соответственно  $3,21 \times 10^6$  и  $4,13 \times 10^6$  клеток/мл. В зимний период у берегов бухты Казачьей, включая районы указанных станций, наблюдалось массовое скопление медуз *Aurelia aurita*. Обилие продуктов метаболизма, очевидно, могло вызвать увеличение численности бактерий в морской воде даже в зимний период. На станциях 4 и 8 численность гетеротрофных бактерий в морской воде достигала высоких значений, не типичных для зимнего периода, показатели которой колебались в диапазоне  $2,5 \times 10^3 - 1,4 \times 10^5$  клеток/мл. К концу месяца, при отсутствии медуз, она уменьшилась и варьировала от 95 до  $9,5 \times 10^3$  клеток/мл. Численность нефтеокисляющих бактерий оставалась низкой и находилась в пределах от 2,5 до 45 клеток/мл.

В донных осадках станций 4, 8, 11, 13 – 16 средняя численность гетеротрофных бактерий составила  $10^5$  клеток/г (табл. 2). Максимальная численность отмечена на станциях 4 и 8 и соответствовала показателям, полученным для донных осадков других черноморских портов [10]. В то же время выявленный широкий диапазон колебаний численности бактерий свидетельствовал о нестабильном характере их содержания в донных осадках. На 10-й станции средняя численность гетеротрофных бактерий составила  $7,5 \times 10^3$  клеток/г, т.е. в сравнении с остальными станциями была ниже в 13 раз. Максимальная численность нефтеокисляющих бактерий в донных осадках обнаружена не только на станциях 4 и 8, но и на станции 15, расположенной у причала, и превышала их численность на удаленных от источников нефтяного загрязнения станциях 11, 13, 14, 16 в среднем в 3 раза, а на контрольной 10-й станции – в 10 раз. В донных осадках коэффициенты корреляции между показателями численности бактерий были низкими ( $r = 0,11$ ).

Таблица 2.

Численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий в донных осадках

№№ станций	Численность бактерий, клеток/1 г влажного грунта	
	гетеротрофные бактерии	нефтеокисляющие бактерии
4, 8	$\frac{3,0 \times 10^2 - 1,5 \times 10^7}{10^5}$	$\frac{4,5 - 9,5 \times 10^4}{1,5 \times 10^3}$
15	$\frac{9,5 \times 10^4 - 2,5 \times 10^5}{10^5}$	$\frac{9,5 \times 10^2 - 2,5 \times 10^3}{1,5 \times 10^3}$
11, 13, 14, 16	$\frac{2,5 \times 10^4 - 1,5 \times 10^5}{10^5}$	$\frac{9,5 \times 10^2 - 2,5 \times 10^3}{4,5 \times 10^2}$
10	$\frac{2,5 \times 10^2 - 4,5 \times 10^3}{7,5 \times 10^3}$	$\frac{0,4 - 2,5 \times 10^3}{1,5 \times 10^2}$

\*- в числителе – диапазон колебания значений; в знаменателе - среднее значение

Общая численность бактерий является важным показателем состояния бактериального сообщества. Соотношение общей численности к численности гетеротрофных бактерий служит одним из показателей качества воды. Чем выше значения соотношения, тем удовлетворительнее состояние морской воды, и, наоборот, его уменьшение свидетельствует об ухудшении состояния. На станциях 4 и 8 соотношение составило 2000, на станции 10 – 8000, что говорит о более высокой доле морских гетеротрофных бактерий в районе поступления загрязненных стоков на первых двух станциях.

Анализ изменений численности бактерий в течение длительного промежутка времени дает возможность установить происходящие перестройки в бактериальном сообществе. В нашем случае это представляется невозможным, так как определение общей численности и биомассы бактериопланктона в морской воде бухты Казачьей ранее не проводились. Однако даже результаты первичных данных по определению ОЧБ могут быть показателем качества среды акватории. Как указано выше, среднее значение ОЧБ бухты Казачьей было ниже аналогичного показателя для Севастопольской бухты, что подтверждает факт удовлетворительного экологического состояния изучаемой водной экосистемы.

Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение процесса поступления ливневых стоков в акваторию бухты.

### ВЫВОДЫ

1. В морской воде общее содержание бактерий в районе поступления ливневых стоков ( $2,2 \times 10^6$  клеток/мл) было выше, чем в мористой части бухты Казачьей ( $1,64 \times 10^6$  клеток/мл). Следовательно, наиболее эвтрофированным являлся прибрежный участок бухты в районе поступления стоков.
2. Зарегистрировано два пика численности гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий: максимальный – весной и менее выраженный – осенью. Весной численность гетеротрофных и нефтеокисляющих бактерий составила

соответственно  $6 \times 10^3$  клеток/мл и 60 клеток /мл, осенью –  $2 \times 10^3$  клеток/мл и 20 клеток /мл.

3. Отмечено необычное явление зимнего периода – наиболее высокая общая численность бактерий ( $3,5 \times 10^6$  клеток/мл) при массовом скоплении медуз *Aurelia aurita*.

### Список литературы

1. Качество дренажных, ливневых и сточных вод, сбрасываемых в море и Хаджибейский лиман / С.Е. Дятлов, Е.Г. Патлатюк, В.А. Никаноров [и др.] // Экологические проблемы Черного моря. – Одесса : ОЦНТЭИ – 2002. – С. 69–73.
2. Тучковенко Ю.С. Влияние ливневого стока на загрязнение прибрежной зоны г. Одессы / Ю.С. Тучковенко, О.Ю. Сапко // Экологические проблемы Черного моря. – Одесса : ОЦНТЭИ, 2004. – С. 446–450.
3. Беляева О.И. Влияние ливневого стока на нефтяное загрязнение в бухте Казачья (Черное море) / Ольга Ивановна Беляева // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 17–21.
4. Миронов О.Г. Экологическая характеристика бухты Казачьей (Черное море) / О.Г. Миронов, Л.Н. Кирюхина, С.В. Алемов // Экология моря. – 2002. – № 61. – С. 85–89.
5. Цыбань А.В. Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений / Алла Викторовна Цыбань. – Л. : Гидрометеоздат, 1980. – 191 с.
6. Родина А.Г. Методы водной микробиологии / А.Г. Родина – М. : Наука, 1965. – 363 с.
7. Рылькова О.А. Современное состояние бактериопланктонного сообщества Севастопольской бухты / О.А. Рылькова, О.Г. Найданова, Р.Б. Кемп // Акватория и берега Севастополя: экосистемные процессы и услуги обществу. – Севастополь : Аквавита, 1999. – С. 115–120.
8. Теплинская Н.Г. Бактерии пелагиали и бентали / Н.Г. Теплинская, Н.В. Ковалева // Северо-западная часть Черного моря: биология и экология. – Киев : Наук. думка, 2006. – С. 146–174.
9. Беляева О.И. Особенности сезонной и годовой динамики бактериопланктона в Севастопольской бухте (1980 – 1984 гг.) / Ольга Ивановна Беляева // Тр. Гос. океанографич. ин-та. - Л. : Гидрометеоздат, 1987. – № 180. – С. 112–119.
10. Миронов О.Г. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке / О.Г. Миронов, Л.Н. Кирюхина, С.В. Алемов. – Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – 185 с.

**Беляева О.И. Чисельність і біомаса бактерій у районі надходження зливового стоку в бухту Козачу (Чорне море) / О.И. Беляева // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 67-72.**

Приведені дані про визначення чисельності і біомаси бактерій у районі вступу зливових стоків у бухту Козачу. Найбільш евтрофированною була прибережна ділянка бухти. Зареєстровано два піки чисельності бактерій : максимальний – навесні і менш виражений – восени. Висока загальна чисельність бактерій спостерігалася в зимовий період при масовому скупченні медуз *Aurelia aurita*.

**Ключові слова:** бактеріопланктон, зливіві стоки, Чорне море.

**Belyaeva O.I. Abundance and biomass of bacteria in the district of receipt of thundershower flow in a Kazachya Bay (Black sea) / O.I. Belyaeva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 67-72.**

Data on determination of abundance and biomass of bacteria in the district of receipt of thundershower flows in a Kazachya Bay werw cited. The off-shore area of bay of receipt was the most eutrophical. Two peaks of abundance of bacteria are registered: maximal in spring and less expressed - in autumn. The highest general abundance of bacteria was observed in a winter period at the mass accumulation of jelly-fishes *Aurelia aurita*.

**Keywords:** bacterioplankton, thundershower flows, Black sea.

Поступила в редакцію 13.05.2011 г.



**УДК 634.8:631.532/.535**

## **МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

*Бугаенко Л.А.<sup>1</sup>, Иванова-Ханина Л.В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Республиканское высшее учебное заведение «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Южный филиал «Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Украина*

*E-mail: lidaiwanova-khanina@rambler.ru*

Показано, что при подборе питательной среды для культивирования апикальных меристем следует учитывать не только влияние генотипа, но и специфику инициальных почек. Установлена оптимальная питательная среда для культивирования микропобегов винограда на этапе собственно микроразмножения, содержащая БАП (0,5 мг/л) и ГК (1,0 мг/л). Выявлена различная реакция исследуемых генотипов на концентрацию ИУК для стимуляции процесса ризогенеза. Установлена высокая эффективность абсорбента TERAWEТ при адаптации микрорастений винограда к условиям *in vivo*.

**Ключевые слова:** клональное микроразмножение, виноград, экспланты, культура апикальных меристем, питательная среда, микрочеренки.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Виноградарство является традиционной отраслью сельского хозяйства Крыма. Однако в последние годы в этой отрасли наблюдаются негативные тенденции: сокращаются площади, снижается продуктивность и сортовой состав насаждений. В значительной степени такая ситуация обусловлена тем, что питомниководческие хозяйства могут удовлетворить потребность в саженцах лишь на 20-25%, причем большая часть выращиваемых по традиционной технологии саженцев инфицирована вирусными и бактериальными заболеваниями [1, 2]. Использование такого посадочного материала способствует распространению патогенов и накоплению их на промышленных плантациях с каждым годом культивирования. В связи с этим становится актуальным вопрос о качестве саженцев, используемых для закладки плантаций винограда.

Некоторыми исследователями показано, что культивирование клонов, свободных от системных и хронических заболеваний, значительно повышает продуктивность винограда и его качество, долговечность насаждений и устойчивость их к неблагоприятным факторам среды [1, 3]. Для получения высококачественного посадочного материала необходимо выращивать только безвирусный и безбактериальный посадочный материал высоких селекционно-санитарных категорий. Приоритетным для получения оздоровленного посадочного материала является клональное микроразмножение в культуре *in vitro*. На сегодняшний день это наиболее перспективное направление в борьбе с системными и хроническими заболеваниями винограда. Этот метод характеризуется высоким

коэффициентом размножения (до  $1:10^7$ ), что позволяет значительно ускорять селекционный процесс и внедрять новые сорта в производство.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили растения винограда *Vitis vinifera* L. сортов Молдова, Сурученский белый, Шевченко, Каберне Совиньон и Фрумоасе албэ. В работе использовались традиционные биотехнологические методики, для введения использовали апикальные меристемы размером 0,2...1,0 мм с 1-2 листовыми примордиями, которые выделяли из пазушных (пасынковых и зимующих) почек винограда.

Для поверхностной стерилизации растительный материал обрабатывали 70 %-м этанолом (35 секунд) и 50 %-м брадофеном (12 минут) и промывали в трех сменах автоклавированной воды по 10 минут в каждой. Культивирование меристем осуществляли на питательной среде Мурасиге и Скуга, содержащей 0,7 % агара, и дополненной регуляторами роста группы ауксинов, цитокининов и гиббереллинов в различных соотношениях. Условия культивирования: температура 24-26 °С, относительная влажность воздуха 60-70 %, 16-ти часовой фотопериод и освещенность 2-3 тыс. люкс. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 7.0 пакета прикладных программ Microsoft Office® для Microsoft Windows®.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В основу клонального микроразмножения растений в культуре *in vitro* положено регулирование морфогенеза подбором питательной среды для культивирования. Первый этап клонального микроразмножения – введение в культуру *in vitro* – один из важнейших для размножения растений и зависит от многих факторов. В первую очередь, это размер экспланта, соотношение гормонов в составе питательной среды и генотип. Через 60 суток после помещения апикальных меристем винограда на питательные среды с добавлением регуляторов роста получены следующие данные (табл. 1).

Анализ полученных данных показал, что для сорта Молдова оптимальной гормональной добавкой в среду для культивирования апикальных меристем из пасынковых почек является БАП и кинетин (по 1,0 мг/л), а апикальные меристемы из почек глазка характеризуются более высокими параметрами на аналогичной среде или при сочетании БАП, кинетина и ИУК (по 1 мг/л). Для культивирования апикальных меристем пасынковых почек сорта Сурученский белый оптимальными для процессов морфогенеза были несколько вариантов питательной среды: БАП (0,5-1,0 мг/л) и сочетание БАП и ГК (1,0 и 0,5 мг/л соответственно). При использовании в качестве инициалей почек глазка оптимальными для культивирования меристем были варианты среды с введением БАП и ГК (в указанной выше концентрации) и сочетанием БАП, кинетина и ИУК (по 1 мг/л).

Для сорта Шевченко оптимальным было сочетание БАП (2,0 мг/л) и ГК (0,5 мг/л), а для сорта Фрумоаса албэ – введение в среду БАП (1,0 мг/л) и ГК

**МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ IN VITRO**

(0,5 мг/л). Оптимальными для культивирования эксплантов сорта Каберне Совиньон были среды с добавлением БАП в концентрации 0,5 мг/л и сочетание БАП (1,0 мг/л) с ГК (0,5 мг/л).

**Таблица 1.**

**Влияние гормонального состава питательной среды и типа инициальных почек на рост микрорастений винограда (60 суток культивирования)**

Гормональные добавки в питательной среде	Концентрация гормонов, мг/л	Высота побегов, мм				
		Молдова	Сурученский белый	Шевченко	Фрумоаса албэ	Каберне Совиньон
пасынкoвая почка						
БАП	0,5	7,8±2,1	12,1±2,3	8,7±0,3	14,5±1,1	34,2±2,6
	1,0	11,8±1,4	12,1±2,0	9,2±0,6	16,2±0,8	32,7±1,8
	2,0	9,3±1,7	11,4±1,9	10,1±1,2	16,6±0,5	33,4±3,1
БАП ГК	1,0 0,5	10,5±2,0	12,2±1,8	13,2±1,3	18,3±0,6	33,7±1,9
БАП ГК	2,0 0,5	8,8±2,2	11,6±1,5	16,3±0,7	17,0±0,5	33,5±1,1
БАП кинетин	1,0 1,0	14,1±1,7	11,2±0,8	11,4±1,3	15,1±1,6	16,4±2,1
БАП кинетин ИУК	1,0 1,0 1,0	10,1±2,4	11,9±2,1	12,8±0,6	16,4±0,9	18,2±2,3
зимующая почка						
БАП	0,5	2,1±0,1	1,7±0,1	2,3±0,0	3,7±0,5	3,8±0,2
	1,0	1,8±0,1	2,0±0,4	2,0±0,2	4,4±0,3	3,1±0,4
	2,0	2,2±0,2	1,9±0,4	3,1±0,6	2,7±0,1	3,3±0,2
БАП ГК	1,0 0,5	2,8±0,3	3,4±0,1	3,4±0,3	5,1±0,2	3,6±0,3
БАП ГК	2,0 0,5	3,0±0,3	2,0±0,3	3,3±0,4	4,4±0,3	2,5±0,3
БАП кинетин	1,0 1,0	3,4±0,2	2,6±0,2	2,9±0,2	2,6±0,2	2,4±0,2
БАП кинетин ИУК	1,0 1,0 1,0	3,0±0,4	3,5±0,3	2,9±0,3	3,11±0,2	3,3±0,6

В процессе культивирования было отмечено, что высота побегов при использовании в качестве инициалей апикальных меристем пасынкoвых почек у всех исследуемых сортов значительно выше, чем при использовании апикальных меристем зимующей почки. Такое явление связано с генетической

предопределенностью – пасынковые почки в естественных условиях произрастания имеют более короткий период развития и характеризуются более интенсивным ростом. Также следует отметить следующую особенность использования апикальных меристем из различных типов почек винограда: при культивировании пасынковой почки происходило формирование преимущественно одного побега, тогда как при культивировании апикальных меристем зимующих почек отмечалось формирование дополнительных почек у основания побега, хотя на этапе введения развивался только один побег.

Таким образом, в результате исследований выявлено, что реакция на гормональный состав среды может быть различной не только в связи с сортовой специфичностью, но и обуславливаться использованием апикальных меристем из разных типов почек.

Для индукции роста дополнительных побегов и удлинения высоты побегов микрорастения пересаживали на питательную среду с повышенной концентрацией ГК, что способствовало получению хорошо развитых побегов винограда всех исследуемых сортов (рис.1).

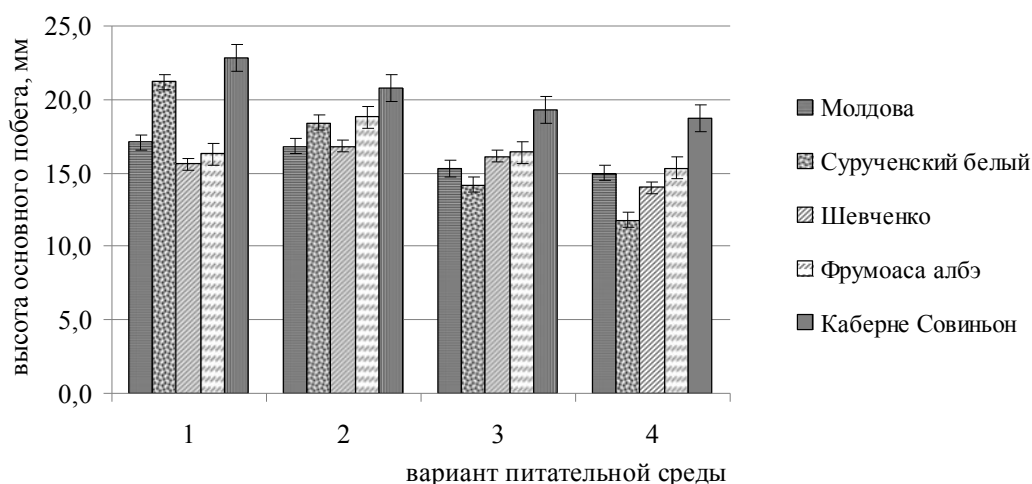


Рис. 1. Влияние гормонального состава питательной среды на развитие микрочеренков винограда на втором этапе клонального микроразмножения (30 сут. культивирования)

Состав гормонов, мг/л: 1 – БАП 0,1+ГК 1,0; 2 – БАП 0,5+ГК 1,0; 3 – БАП 1,0+ГК 1,0; 4 – БАП 2,0+ГК 1,0

Наиболее высокие биометрические показатели у микропобегов исследуемых сортов наблюдались на питательной среде с добавлением БАП (0,5 мг/л) и ГК (1,0 мг/л). Высота побегов варьировала в зависимости от генотипа от 11,6 до 23,8 мм, а количество – в пределах 1,3-2,8 шт. Повышение концентрации БАП до 2,0 мг/л приводит к некоторому утолщению стебля, снижению интенсивности роста основного побега, но способствует интенсивному образованию адвентивных

## МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

побегов у 15,0-32,8 % эксплантов. Основным недостатком сред с повышенной концентрацией БАП является формирование небольших по длине междоузлий, что затрудняет дальнейшее черенкование побегов.

Для определения максимального количества черенков (узлов), которое можно получить с одного микропобега винограда в течение одного цикла выращивания без смены питательной среды растения винограда культивировали на питательной среде, содержащей БАП 0,1 мг/л и ГК 1,0 мг/л. На рис. 2 представлена зависимость коэффициента размножения микропобегов исследуемых сортов винограда от длительности культивирования.

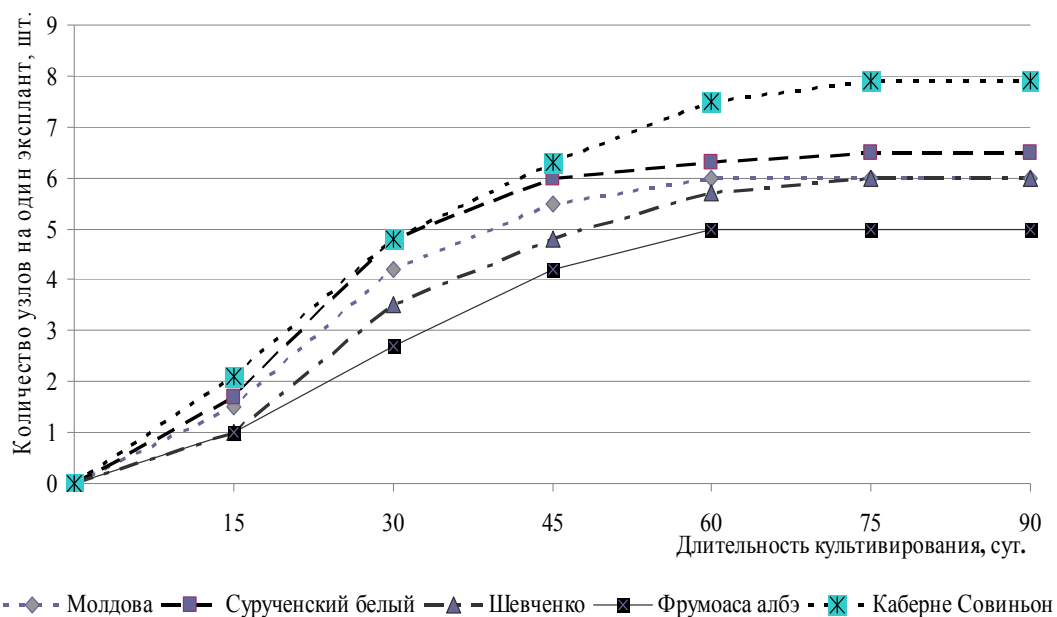


Рис. 2. Влияние длительности культивирования на интенсивность формирования узлов винограда

Полученные результаты показали, что в процессе культивирования *in vitro* у всех изучаемых сортов наблюдалось увеличение коэффициента размножения до определенного периода, в зависимости от сорта. У всех исследуемых сортов было отмечено интенсивное формирование узлов в первые 30 суток культивирования. В зависимости от сорта количество сформированных в этот период узлов составляло 2,7-4,8 шт., тогда как за первые 15 суток был этот показатель составил 1,0-2,1 шт. Максимальное значение показателей было характерно для сортов Каберне Совиньон и Сурученский белый, несколько ниже – у сорта Молдова (4,2 узла). Увеличение периода культивирования до 45 суток приводило к повышению числа узлов в 1,3-1,6 раза, а более длительное культивирование (до 60 суток) – всего в 1,1-1,2 раза. При этом происходило увеличение высоты микропобегов за счет удлинения междоузлий (до 5,6-7,3 мм), увеличение листовых пластинок,

уплотнение побега, но формирование новых узлов протекало медленно. Культивирование более 60 суток приводило к постепенному отмиранию нижних листьев у большинства исследуемых сортов винограда.

Таким образом, оптимальное соотношение длительности культивирования и количества сформированных узлов наблюдается через 30 суток культивирования – коэффициент размножения в зависимости от сорта составляет 2,7-4,8. Однако при культивировании исследуемых сортов винограда без смены питательной среды в течение 45 суток наблюдается удлинение междоузлий побегов, что облегчает дальнейшее микрочеренкование. Коэффициент размножения при этом несколько увеличивается и составляет 4,2-6,3.

Уровень стабильности регенерационных процессов эксплантов в культуре *in vitro* в течение нескольких циклов культивирования является одним из важнейших факторов, определяющих эффективность клонального микроразмножения. Возможность проведения ряда пассажей без изменения морфогенетических потенций экспланта позволяет получать значительное количество микроклонов из одной изолированной меристемы. С этой целью микрочеренки исследуемых нами сортов винограда культивировали на питательной среде до достижения оптимального коэффициента размножения (в течение 45 суток). Полученные микропобеги разделяли по числу сформированных узлов (4-6, в зависимости от сорта) и каждый узел переносили на свежую питательную среду того же состава.

Исследовались особенности развития микропобегов винограда в течение 7 пассажей, длительность каждого пассажа составляла 45 дней. В течение этого периода происходила пролиферация пазушных почек, интенсивный рост и развитие микропобега (рис. 3). Следует отметить, что ни в одном из вариантов не наблюдалось формирования адвентивных побегов, изредка (у 8-22 % эксплантов) у основания микрочеренка образовывался неморфогенный светло-коричневый рыхлый каллус, который удаляли при последующих субкультивированиях.

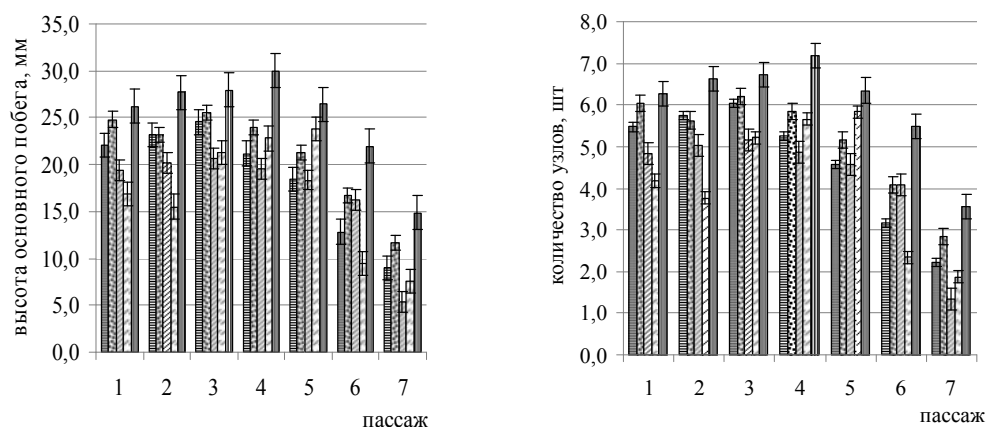


Рис. 3. Влияние количества пассажей на развитие побегов винограда *in vitro*  
 ■ Молдова ■ Сурученский белый ■ Шевченко ■ Фрумоаса албэ ■ Каберне Совиньон

Анализ влияния количества пассажей на особенности развития микропобегов винограда показал, что наибольшей регенерационной способностью исследуемые сорта обладают в течение первого-четвертого пассажей, при дальнейшем культивировании высота побегов и количество сформированных узлов, а, следовательно, и коэффициент размножения, снижается. При этом полученные данные показали, что сорта Молдова, Сурученский белый и Каберне Совиньон в течение третьего-четвертого пассажей формируют интенсивно растущие побеги (до 30,0 мм) с максимальным количеством узлов (до 7,2 шт.). Несколько ниже показатели развития были у сортов Шевченко и Фрумоаса албэ. Следует отметить, что у сорта Фрумоаса албэ биометрические показатели возрастали с количеством пассажей, максимальное количество узлов формировалось в пятом пассаже (5,8 шт.) при высоте побегов  $23,8 \pm 2,1$  мм. При дальнейшем субкультивировании интенсивность регенерационных процессов у всех исследуемых сортов значительно снижается, и, следовательно, последующие пассажи проводить не целесообразно.

На этапе укоренения микропобеги винограда высотой 10-12 мм с 2-3 узлами высаживали на обедненную питательную среду МС, содержащую половинное количество макро- и микросолей, полный набор витаминов и в качестве ауксина ИУК в различных концентрациях. В результате исследований отмечено, что уровень ризогенеза и биометрические показатели значительно варьировали в зависимости от генотипа и концентрации ИУК в питательной среде. Выявлено, что для исследуемых сортов оптимальная концентрация ИУК в питательной среде составляет 0,5-1,0 мг/л. У всех исследуемых сортов на данных вариантах питательной среды было отмечено интенсивное развитие побегов и боковых корней (табл. 2).

Частота ризогенеза была достаточно высокой и варьировала в зависимости от генотипа от 80 до 95 %. Уже на 15 день культивирования в этих вариантах отмечалось, в зависимости от генотипа, формирование в базальной части микрочеренка 1-3 корней длиной 3,8-6,8 мм.

Следует отметить, что в вариантах с низкой концентрацией ИУК (0,2 мг/л) у сортов Молдова, Сурученский белый и Фрумоаса албэ было отмечено отсутствие процессов ризогенеза в течение 15 суток культивирования. В дальнейшем происходило постепенное формирование корней и увеличение их длины, но процесс укоренения в этом варианте протекал медленнее, биометрические показатели были существенно ниже, чем при повышении концентрации ИУК.

В результате исследований установлено, что укоренение микрочеренков сорта Фрумоаса албэ наиболее интенсивно происходит при концентрации ИУК в среде 0,5 мг/л. В этом варианте отмечено формирование интенсивно растущего побега, имеющего 4-6 хорошо развитых корней длиной  $32,7 \pm 0,8$  мм. При дальнейшем повышении концентрации ИУК в среде происходило ингибирование роста растений данного сорта, формировались утолщенные и укороченные корни. Также было отмечено, что культивирование микрочеренков сорта Сурученский белый и Каберне Совиньон на вариантах среды с концентрацией ИУК 0,5-1,0 мг/л способствовало формированию хорошо развитой корневой системы. Количество корней, сформированных у побегов этих сортов, в зависимости от варианта среды

составляло 5,1-5,7 шт. и 5,3-6,0 шт. длиной 38,1-38,4 мм и 36,4-37,6 мм соответственно, при этом между вариантами не было существенной разницы.

**Таблица 2.**  
**Влияние концентрации ИУК на развитие микрочеренков винограда на этапе укоренения *in vitro* (60 суток культивирования)**

Концентрация ИУК, мг/л	Сорт	Прирост побегов, мм	Сформировано узлов, шт.	Количество корней, шт.	Длина корней, мм
0,2	Молдова	20,47±0,53	2,40±0,11	3,60±0,11	10,82±0,36
	Сурученский белый	22,16±0,63	2,70±0,13	3,10±0,12	8,63±0,39
	Шевченко	21,41±0,71	2,60±0,15	3,80±0,16	12,36±0,33
	Фрумоаса албэ	23,42±0,57	2,90±0,12	2,60±0,11	9,43±0,44
	Каберне Совиньон	28,27±0,98	3,70±0,15	4,20±0,19	13,08±0,47
0,5	Молдова	28,46±1,11	3,75±0,16	4,80±0,19	18,19±0,59
	Сурученский белый	38,11±1,38	5,35±0,23	5,25±0,20	38,12±0,95
	Шевченко	26,16±0,82	3,35±0,15	5,55±0,20	36,24±0,94
	Фрумоаса албэ	27,38±0,79	3,55±0,15	5,45±0,27	32,72±0,80
	Каберне Совиньон	38,94±0,81	5,50±0,15	5,60±0,30	36,16±1,02
1,0	Молдова	36,36±1,56	5,10±0,22	5,25±0,19	26,82±0,66
	Сурученский белый	38,29±1,19	5,40±0,15	5,50±0,18	38,43±0,58
	Шевченко	28,74±0,67	3,80±0,14	7,15±0,15	36,27±0,89
	Фрумоаса албэ	18,23±0,61	2,00±0,10	6,20±0,21	26,28±0,58
	Каберне Совиньон	39,20±0,97	5,45±0,14	5,70±0,25	37,58±0,57

Микрочеренки сорта Молдова и Шевченко характеризовались наиболее высокими биометрическими показателями на среде с добавлением 1,0 мг/л ИУК. У сорта Молдова в этом варианте за период культивирования отмечено формирование интенсивно растущего побега с 5,1±0,2 узлами, длиной прироста 36,4±1,6 мм, хорошо развитой корневой системой, состоящей из 5,3±0,2 шт. корней длиной 26,8±0,7 мм. У сорта Шевченко биометрические показатели составили, соответственно: 3,8±0,1 узлов, прирост – 28,7±0,7 мм; следует отметить, что количество корней в этом варианте было выше, чем у остальных исследуемых сортов и составляло 7,2±0,2 шт., длина корней – 36,3±0,9 мм. Таким образом, выявлено, что для укоренения микрочеренков сортов Фрумоаса албэ, Сурученский



## МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

белый и Каберне Совиньон оптимальная концентрация ИУК составляет 0,5 мг/л, а для сортов Молдова и Шевченко – 1,0 мг/л.

Адаптация растений, полученных в культуре *in vitro* к условиям *in vivo*, является очень ответственным завершающим этапом микроразмножения растений.

Для адаптации отбирали микрорастения винограда с хорошо развитой корневой системой, высаживали в емкости объемом 200 мл со стерильным субстратом разного состава и помещали в вегетационный бокс. Наиболее высокая приживаемость (75-87,5 %) микрорастений винограда всех исследуемых сортов была отмечена на субстрате торф: песок: почва в соотношении 1:1:1. В наших исследованиях также для адаптации использовался абсорбент TERAWET (сополимер полиакриламида и полиакрилата калия) в концентрации 5 г/кг субстрата. Полученные данные свидетельствуют, что добавление TERAWET в субстрат для культивирования растений *in vivo* обеспечивает более высокий уровень приживаемости у всех исследуемых сортов (табл. 3).

**Таблица 3.**

### **Влияние абсорбента TERAWET на приживаемость меристемных растений винограда в условиях *in vivo***

Вариант		Приживаемость, %				
		Молдова	Сурученский белый	Шевченко	Фрумоаса албэ	Каберне Совиньон
1	Субстрат 1 (контроль)	87,5±5,0	85,0±2,5	83,7±4,6	75,0±2,5	75,0±5,0
2	Субстрат 1 (3 см верхний слой) + Субстрат 2 (5 см нижний слой)	95,0±0,0	100,0	97,5±2,5	95,0±3,3	100,0

Так, уровень приживаемости растений во втором варианте был максимальным и составил 95-100 %, максимальное значение приживаемости было характерно для сортов Сурученский белый и Каберне Совиньон (100 %). Анализ биометрических показателей показал, что растения, высаженные на субстрат с добавлением TERAWET, характеризовались несколько более высокими биометрическими показателями, но разница между вариантами была несущественной.

Таким образом, добавление абсорбента TERAWET способствовало повышению приживаемости винограда на этапе адаптации к условиям *in vivo* и не оказывало существенного влияния на показатели роста растений.

### **ВЫВОДЫ**

1. При воздействии вибрации с УСД =150 дБ отмечается достоверное ( $P < 0,05$ ) снижение альбуминов и повышение белковых фракций  $\alpha$ - и  $\gamma$ -глобулинов в

- плазме крови экспериментальных животных, что тесно взаимосвязано с обменом аминокислот.
2. Установлено, что реакция на гормональный состав среды может быть различной не только в связи с сортовой специфичностью винограда, но и обуславливаться использованием апикальных меристем из разных типов почек.
  3. Показано, что оптимальной для культивирования микропобегов исследуемых сортов винограда на этапе собственно микроразмножения является питательная среда с БАП (0,5 мг/л) и ГК (1,0 мг/л).
  4. Выявлено, что для укоренения микрочеренков сортов Фрумоаса албэ, Сурученский белый и Каберне Совиньон оптимальная концентрация ИУК составляет 0,5 мг/л, а для сортов Молдова и Шевченко – 1,0 мг/л.

#### Список литературы

1. Скороход В.О. Промислова біотехнологія мікроклонального розмноження винограду в культурі «in vitro» / Скороход В.О. – Херсон: Айлант, 2000. – 327 с.
2. Власов В.В. Состояние и основные направления развития виноградарства и питомниководства Украины на период до 2020 года / В.В. Власов, А.Д. Лянной, Я.С. Спектор // Виноградарство и виноделие XXI столетия : материалы междунар. симпозиума – Одесса: Optimum, 2005. – С. 98–104.
3. Мулюкина Н.А. Вирусные болезни винограда и их влияние на виноградное растение / Н.А. Мулюкина // Виноградарство і виноробство. – 2004. – Вип. 41. – С. 45–53.

**Бугаснко Л.О. Морфогенез винограду в культурі in vitro / Л.О. Бугаснко, Л.В. Иванова-Ханина // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 73-82.**

Показано, що при доборі живильного середовища для культивування апікальних меристем слід не тільки враховувати вплив генотипу, а також і специфіку ініціальних бруньок. Встановлено оптимальне поживне середовище для культивування мікропагонів винограду, із вмістом БАП (0,5 мг/л) та ГК (1,0 мг/л). Виявлено різну реакцію дослідних генотипів до концентрації ІУК для стимулювання процесу різогенезу. Встановлено високу ефективність абсорбенту TERAWET при адаптації мікророслин винограду к умовам *in vivo*.

**Ключові слова:** клональне мікророзмноження, виноград, експланти, культура апікальних меристем, живильне середовище, мікроживці.

**Bugaenko L. The grapevine morphogenesis of in vitro culture / L. Bugaenko, L. Ivanova-Khanina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 73-82.**

Shown the necessity to consider a genotype and features initial buds to choose a nutrient medium for apical meristems cultivation. The nutrient medium containing BAP (0,5 ml/l) and GA (1,0 ml/l) is the optimum for cultivation grapes microsprouts. Revealed that investigated genotypes have different reaction to concentration IAA for stimulation rhizogenesis. Established a high effectiveness of using the absorbent TERAWET for adaptation to *in vivo* conditions.

**Keywords:** clonal micropropagation, grapes, explants, culture of the apical meristems, a nutrient medium, micrografts.

Поступила в редакцію 16.05.2011 г.

**УДК: 612.2 + 612.014.464**

## **ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИКИ ДЫХАНИЯ У ЖЕНЩИН ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА**

*Букова А.В.*

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

Проведены исследования механики дыхания женщин пожилого возраста. Выявлены различные уровни вентиляторных способностей. Определены факторы, способствующие изменению механики дыхания с возрастом, приводящие к развитию пульмонологического риска.

**Ключевые слова:** женщины пожилого возраста, механика дыхания, пульмонологический риск.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что в системе дыхания в течение жизни происходят закономерные изменения, связанные с процессами старения. На каждом этапе онтогенетического развития в зависимости от кислородного запроса организма и возможностей его удовлетворения в реальных условиях большая либо меньшая нагрузка падает на то или иное звено системы дыхания. В пожилом возрасте, являющимся в большей части заключительным этапом жизненного цикла, изменения системы дыхания и кислородных режимов организма особенно выражены. Грудная клетка, дыхательные пути и легкие претерпевают структурные и функциональные изменения, дыхательный ритм учащается, возрастает минутный объем дыхания, изменяются соотношения между легочной и альвеолярной вентиляцией, значительно увеличивается физиологическое мертвое дыхательное пространство и снижается доля альвеолярной вентиляции в структуре минутного объема дыхания. Несмотря на увеличение легочной вентиляции, альвеолярная вентиляция снижается, что наряду с уплотнением альвеолярно-капиллярной мембраны, уменьшением диффузионной поверхности альвеол и ухудшением процесса диффузии кислорода через альвеолярно-капиллярные мембраны ведет к увеличению альвеолярно-капиллярного градиента  $PO_2$ , снижению напряжения и содержания кислорода в артериальной крови и насыщения её кислородом. В пожилом возрасте отмечается сочетание респираторной, циркуляторной, гемической гипоксии, снижается интенсивность тканевого дыхания, чем и объясняется своеобразие гипоксических состояний в этом возрасте [1]. Все эти изменения приводят не только к резкому падению приспособительных возможностей организма пожилого человека, но и могут являться фактором пульмонологического риска. Вместе с тем, этапы пульмонологического риска, уровни предболезни практически не изучены; нет классификации и критериев оценки изменений этих состояний. В последние годы

появились работы, в которых показано, что у части людей значения некоторых показателей функции системы внешнего дыхания и респираторного аппарата значительно отклоняются от статистической нормы, особенно у людей пожилого и старческого возраста [2, 3]. При этом никто не подвергает сомнению то, что состояние пульмонологического риска можно определить только с помощью исследования систем внешнего дыхания [4, 5]

В связи с изложенным целью работы явилась оценка особенностей механики дыхания у женщин пожилого возраста и возможности проявления пульмонологического риска, связанного с возрастными изменениями.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Было обследовано 45 женщин в возрасте 65-70 лет.

Механика дыхания изучалась при помощи прибора «Спиро-Тест РС» с компьютерной обработкой регистрируемых показателей. При этом фиксировали следующие функциональные показатели: объём лёгочной вентиляции (VE, л/мин), дыхательный объём (VT, мл), частоту дыхательных движений (f, цикл/мин), ЖЕЛ вдоха (ЖЕЛвд, л), форсированную ЖЕЛ (ФЖЕЛ, л), объём форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ 1, л), пиковую объёмную скорость (ПОС, л/с), мгновенную объёмную скорость на уровне 25, 50, 75 % ЖЕЛ (МОС 25, МОС 50, МОС 75, л/с), среднюю объёмную скорость на уровне 25-75 % ЖЕЛ (СОС25-75, л/с), среднюю объёмную скорость на уровне 75-85 % ЖЕЛ (СОС 75-85, л/с), ЖЕЛ выхода (ЖЕЛвыд, л), резервный объём вдоха (Ровд, мл), резервный объём выдоха (Ровыд, мл), отношение времени выдоха ко времени вдоха (Твыд/Твд), ёмкость вдоха (Евд, л). Оценивали уровень дыхания (УД, отн.ед) по соотношению Ровыд/Ровд, проводили пробу Тифно-Вотчала (ОФВ1/ЖЕЛвд, %).

Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы STATISTICA V.6.0. Для оценки достоверности отличий использовали t-критерий Стьюдента.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Анализ результатов исследования позволил выявить значительный диапазон изменений регистрируемых показателей механики дыхания у женщин пожилого возраста. В этой связи, с целью выявления закономерностей, определяющих тот или иной уровень вентиляторных способностей, все женщины были распределены на три группы. К первой группе были отнесены обследуемые с вентиляторными способностями в пределах возрастной нормы (15 человек). Во вторую группу были включены женщины с умеренно сниженными вентиляторными способностями (15 человек) и третью группу составили женщины с резко сниженными вентиляторными способностями (13 человек). Основным критерием распределения обследуемых на группы и необходимым условием правильной оценки функций механики дыхания являлось сопоставление фактических показателей с должными величинами (%Дз) (таблица 1).

Таблица 1.

**Фактические и должные значения показателей механики дыхания у женщин трех обследуемых групп ( $X \pm Sx$ )**

Показатели	1 группа		2 группа		3 группа	
	$X \pm Sx$	%Дз	$X \pm Sx$	%Дз	$X \pm Sx$	%Дз
ОФВ 1, л/с	2,47±0,13	98,2	2,06±0,08	96,2	1,70±0,10	70,2
ПОС, л/с	5,21±0,42	94,6	4,31±0,27	81,4	3,08±0,32	60,4
МОС 25, л/с	4,67±0,40	91,5	4,11±0,25	88,5	3,08±0,32	63,5
МОС 50, л/с	3,24±0,26	90,0	3,05±0,21	89,4	2,23±0,26	63,9
МОС 75, л/с	1,46±0,13	90,6	1,27±0,13	80,8	1,22±0,22	72,7
ЖЕЛ вд, л	2,78±0,05	75,3	2,087±0,03	67,1	1,65±0,10	52,0
ФЖЕЛ, л	2,93±0,14	98,7	2,34±0,07	81,5	1,96±0,08	72,3

Как следует из представленных результатов лимитирующим фактором проявления вентиляторных способностей у женщин 1 группы следует считать сниженные сократительные способности инспираторной мускулатуры на что указывают низкие значения ЖЕЛвд, не превышающие 75,0% должных величин, ( $p < 0,05$ ). Женщины второй группы также характеризовались пониженной инспираторной активностью: величины ЖЕЛвд составляли 67,1% должных значений ( $p < 0,05$ ). На сниженные функциональные возможности респираторной мускулатуры указывало также уменьшение величины ПОС примерно на 20,0 % ( $p < 0,05$ ) относительно возрастных норм. Наиболее низкие вентиляторные способности выявлены у женщин третьей группы. Наряду с резким ограничением возможностей для осуществления фазы вдоха у них отмечались изменения в показателях механических свойств аппарата вентиляции, что нашло свое отражение в уменьшении величин ФЖЕЛ и ОФВ1. Кроме того значения ОФВ1, характеризующая суммарную проходимость дыхательных путей, составляли всего 70,0 % должных значений, что указывало на снижение бронхиальной проходимости, связанное, очевидно, с процессами эмфизированных изменений [8]. Падение скорости воздушного потока отмечено на всех уровнях бронхиальной системы легких. Зарегистрировано снижение бронхиальной проходимости на уровне больших и средних бронхов в среднем на 37,0%, ( $p < 0,05$ ) и величины ПОС на 40,0%, ( $p < 0,05$ ) относительно должных значений. Если скорость воздушного потока в больших и средних бронхах зависит главным образом от сократительных способностей респираторной мускулатуры, то снижение величины бронхиальной проходимости в мелких бронхах определяется только тонусом и общей площадью поперечного сечения дыхательных путей, которые вовлекаются в обструктивный процесс в первую очередь [10].

Таким образом, выявленные особенности механики дыхания у женщин пожилого возраста позволяют предположить наличие пульмонологического риска у всех обследуемых, степень которого наиболее выражена у женщин 3 группы.

Наиболее детальный анализ состояния механики дыхания у женщин пожилого возраста позволяет провести оценка фактических показателей, которые представлены в Таблице 2.

**Таблица 2**

**Показатели механики дыхания женщин пожилого возраста с различным уровнем вентиляторных способностей ( $\bar{X} \pm Sx$ )**

№ п/п	Показатели	Группы испытуемых			Достоверность различий		
		1 группа (n=13)	2 группа (n=15)	3 группа (n=15)	P1-P2	P1-P3	P2-P3
1.	ЖЕЛ вд., л	1,65±0,1	2,78±0,05	2,08±0,03	<0,001	<0,001	<0,001
2.	ФЖЕЛ, л	1,96±0,08	2,93± 0,14	2,34± 0,07	<0,001	<0,001	<0,001
3.	ОФВ1, л	1,7±0,1	2,47 ±0,13	2,06± 0,008	<0,001	<0,05	<0,05
4.	ОФВ1/ФЖЕЛ, %	86,23± 3,05	84,2± 3,24	88,0±1,72	>0,05	>0,05	>0,05
5.	ПОС, л/с	3,08± 0,32	5,21 ±0,42	4,31 ±0,23	<0,001	<0,01	>0,05
6.	МОС25, л/с	3,08± 0,32	4,67± 0,4	4,11 ±0,25	<0,01	<0,05	>0,005
7.	МОС50, л/с	2,23± 0,26	3,24 ±0,26	3,05 ±0,21	<0,001	>0,05	>0,05
8.	МОС75, л/с	1,22± 0,22	1,46 ±0,15	1,27± 0,13	>0,05	>0,05	>0,05
9.	СОС25-75, л/с	2,19± 0,26	2,77± 0,2	2,5± 0,24	>0,05	>0,05	>0,05
10.	ЖЕЛ выд, л	2,51±0,15	3,94±0,17	2,58±0,11	<0,001	>0,05	<0,001
11.	РО вд, л	1,41±0,13	1,95±0,12	1,51±0,09	<0,01	>0,05	<0,01
12.	VT, л	0,7±0,04	0,95±0,1	0,7±0,02	<0,05	>0,05	<0,05
13.	РО выд, л	0,44±0,11	0,66±0,13	0,36±0,12	>0,05	>0,05	>0,05
14.	Е вд, л	2,12±0,15	2,86±0,08	2,21±0,1	<0,001	>0,05	<0,001
15.	VE, л/мин	12,14±0,7	13,93±1,07	12,64±0,7	>0,05	>0,05	>0,05
16.	Твыд/Т вд	1,32±0,03	1,5±0,1	1,46±0,07	>0,05	>0,05	<0,05
17.	ЧД, цикл/мин	17,0±0,85	15,4±0,72	17,7±0,84	>0,05	>0,05	>0,05

Следует обратить внимание на показатели легочной вентиляции, которые у всех обследуемых превышают значения физиологической нормы и находились в пределах 12,0-14,0 л/мин. Очевидно, достаточно высокий уровень вентиляции в этом возрасте следует рассматривать как проявление возрастных структурных и функциональных изменений (9). Однако паттерн дыхания, характеризующий вентиляцию в целом, несколько отличался у женщин с различными вентиляторными способностями. У женщин первой группы паттерн дыхания в большей степени соответствовал брадипноическому типу, при этом величина дыхательного объема на 250 мл превышала значения, зарегистрированные у остальных женщин ( $p < 0,01$ ). Для женщин 2 и 3 группы паттерн дыхания приобретал черты нормопноического, но с достаточно высокими значениями глубины дыхания.

Повышенная легочная вентиляция, как известно, приводит к росту энергетических затрат респираторной мускулатуры и при изменениях VE в пределах 25,0 л/мин на каждый литр вентилируемого воздуха расходуется примерно 0,13 ккал [6]. В этой связи возрастание энерготрат в состоянии покоя отражает нарушение принципа

экономизации функции и может косвенно указывать на снижение резервов и более напряженную работу аппарата дыхания [9]. Очевидно, высокая вентиляторная реактивность в состоянии покоя у женщин пожилого возраста определяется морфологическими изменениями в респираторной структуре легких и может рассматриваться как проявление пульмонологического риска. В тоже время сохранение стабильной легочной вентиляции у обследуемых обеспечивалось реципрокными отношениями между частотой дыхания и дыхательным объемом ( $r=-0,47$ ), нивелирующим таким образом изокапнические колебания паттерна дыхания.

Значительная роль в проявлении вентиляторных способностей отводится показателям ЖЕЛвд, РОвд, РОвыд и Евд. Наиболее низкие значения этих величины были зарегистрированы у женщин второй и третьей группы. Так, ЖЕЛвд в среднем на 37,0%, Ровд на 28,0%, РОвыд на 62,05, ( $p<0,01$ ) были ниже, относительно данных обследуемых первой группы. Выраженное снижение жизненной ёмкости выдоха и ёмкости вдоха можно отнести к рестриктивным ограничениям, приводящим к изменению механики дыхания. В этом случае роль Евд в экскурсии грудной клетки в большей степени переходит к РОвыд. Следует отметить, что РОвд и РОвыд в значительной степени определяются функциональным влиянием, связанным с координацией дыхательного акта. При этом, чем меньше объём резервного выдоха относительно резервного объёма вдоха, тем ниже уровень дыхания. Женщины пожилого возраста характеризовались низким уровнем дыхания, особенно обследуемые 2 и 3 группы. При низком уровне дыхания создаются условия для усиления элиминации метаболического  $CO_2$  через легкие. Кроме того изменения РОвыд могут быть обусловлены изменением эластической тяги легких, которая, в основном, зависит от продукции сурфактанта на респираторную поверхность [7]. Следовательно, у женщин пожилого возраста рестриктивные изменения усиливают влияние гипоксического стимула в регуляции дыхания, проводящего к росту  $VE$ , возникновению дыхательной недостаточности.

Как отмечалось ранее у женщин, пожилого возраста характерным являлось снижение скорости воздушного потока при форсированном выдохе на всех уровнях бронхиальной системы легких. Вместе с тем, выявлены различия в показателях бронхиальной проходимости у обследуемых с различным уровнем вентиляторных способностей (рис.1).

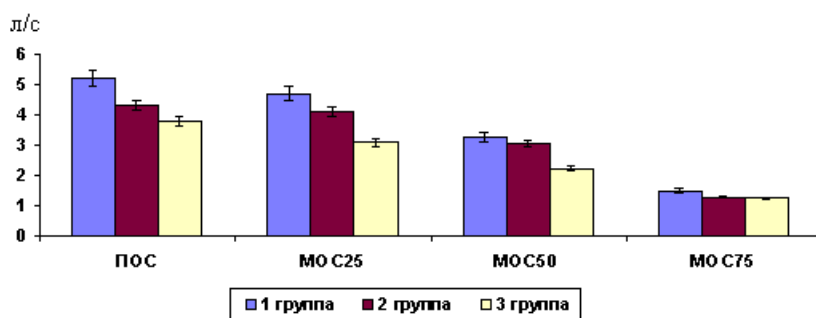


Рис.1 Показатели бронхиальной проходимости у женщин пожилого возраста.

Наиболее низкие значения были зарегистрированы у женщин третьей группы. Так, показатели пиковой объемной скорости воздушного потока, мгновенной скорости на уровне 25,50 % ЖЕЛ были снижены на 30-40 % относительно данных обследуемых 1 и 2 группы.

Обращает на себя внимание низкие значения МОС75 у всех обследуемых женщин. Очевидно, начальный этап возрастных изменений связан с вовлечением в obstructивный процесс мелких дыхательных путей. В последующем в obstructивный процесс вовлекается и респираторная мускулатура.

Низкие значения ПОС, МОС25 могут свидетельствовать об ограниченных функциональных возможностях экспираторных мышц, лимитирующих скорость воздушного потока в больших и средних бронхах. Следовательно, возрастные изменения охватывают как морфологическую структуру бронхиальной системы легких, так и респираторную мускулатуру. Вместе с тем активность этих изменений у женщин пожилого возраста выражена по-разному.

Значительная информация о состоянии механики дыхания может быть получена при оценке формы кривой зависимости поток-объем максимального вдоха и выдоха. Различают несколько типов петель, характерных для некоторых функциональных состояний механики дыхания. На Рисунке 2 представлены в качестве примера три петли объемной скорости потока и объема в процессе максимального вдоха и выдоха, соответствующие вентиляторным способностям в пределах возрастной нормы (А), со сниженными вентиляторными способностями (Б) и значительно сниженными вентиляторными способностями (В).

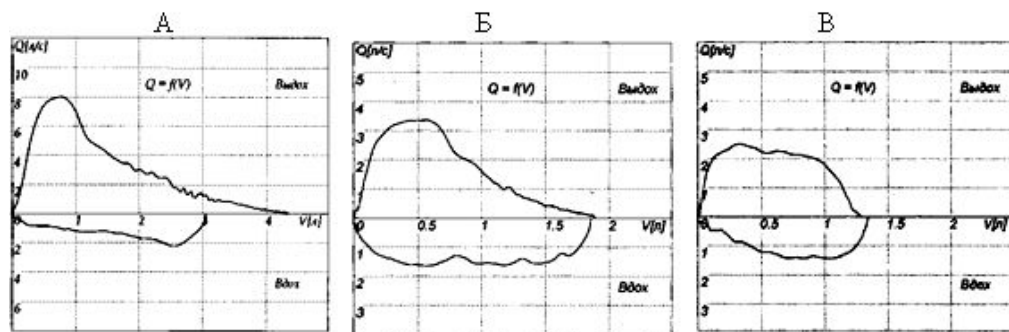


Рис. 2. Кривые зависимости поток-объем максимального вдоха и выдоха у женщин с различным уровнем вентиляторных способностей.

А – норма, Б – незначительно сниженные, В – значительно сниженные.

На графике различают инспираторную часть петли (Вдох) и экспираторную (Выдох). Наибольшей диагностической ценностью обладает экспираторная часть петли, отражающая скорость изменения движения выдыхаемого воздуха в зависимости от объема легких. Как видно из графика, чем меньше объем легких, тем ниже величина потока, которая в ходе выдоха неуклонно снижается. Максимальная экспираторная объемная скорость потока соответствует вершине



кривой. В дальнейшем у лиц с вентиляторными способностями в пределах нормы наблюдается резкое снижение графика, характеризующее величину развиваемого мышечного усилия. У женщин с ограниченными вентиляторными способностями, в начале экспираторного маневра отмечается уплощение графика, которое наиболее выражено у обследуемых третьей группы. Наличие плато может свидетельствовать о сниженной эластичности легких, недостаточной сократительной способности респираторной мускулатуры, что ограничивает закрытие дыхательных путей. Отмеченные изменения позволяют сделать заключение о вентиляторных нарушениях рестриктивного типа с умеренно выраженной бронхиальной обструкцией (рис. 2 Б.В).

Таким образом, у женщин пожилого возраста выявлены изменения в состоянии механики дыхания, определяющие вентиляторные способности и позволяющие оценить степень пульмонологического риска.

### ВЫВОДЫ

1. Выявлен значительный диапазон изменений показателей механики дыхания у женщин пожилого возраста, характеризующий различные уровни вентиляторных способностей.
2. Отмеченные особенности механики дыхания у женщин пожилого возраста позволяют предположить наличие пульмонологического риска у всех обследуемых, степень которого наиболее выражена у женщин с низкими вентиляторными способностями.
3. Для женщин пожилого возраста характерным является низкий уровень дыхания, способствующий элиминации метаболической углекислоты через легкие. Изменения механики дыхания у женщин связаны с рестриктивными ограничениями и усилением гипоксического стимула в регуляции дыхания, приводящего к гипервентиляции.
4. Зарегистрировано значительное снижение бронхиальной проходимости на уровне мелких бронхов у всех обследуемых. Возможно, начальный этап возрастных изменений связан в первую очередь с вовлечением в обструктивный процесс мелких дыхательных путей.

### Список литературы

1. Вторичная тканевая гипоксия / Под ред. А.З. Колчинской – Наукова Думка Киев – 1983. – 254 с.
2. Кузнецова В.К. Критерии оценки границ нормальных значений параметров, рассчитываемых из регистрации отношений поток-объем-время маневра форсированной жизненной ёмкости легких выдоха / В.К. Кузнецова, Е.С. Аганезова // Пульмонология – 1996. – В. 1. – С. 125–132
3. Срапо R.O. The role of reference values in interpreting lung function tests / R.O. Срапо // Eur. Respir.J.-2004. – Vol. 24, № 3. – P.341–342.
4. Гриппи М.А. Патофизиология легких / М.А. Гриппи – М., 1997. – 344 с.
5. Палеев Н.Р. Хронические неспецифические заболевания легких / Палеев Н.Р., Царьков Л.И., Борохов А.И. – М., 1985. – 420 с.
6. Анохин М.П. Спирография у детей / Анохин М.П. – М. Медицина, 2003. – 118 с.
7. Зильбер А.П. Дыхательная недостаточность. Руководство / Зильбер А.П. – М. Медицина – 1989. – 511 с.

8. Агаджанян Н.А. Экологическая физиология человека / Н.А. Агаджанян, А.Г. Марачев, Г.А. Бобков. – М., 1998. – С.279–245.
9. Guenette J.A. Respiratory mechanics during exercise in endurance-trained men and women / J.A. Guenette, J.D. Witt, D.C. McKezie // J. Physiol., June 15, 2007. – 581(3). – P. 1309–1322.
10. Физиология человека / Под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса. – Т.2. – М., 2004. – 567 с.

**Букова А.В. Особливості механіки дихання у жінок похилого віку/ А.В. Букова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 83-90.**

Проведено дослідження механіки дихання жінок літнього віку. Виявлено різні рівні вентиляторних здібностей. Визначено фактори, що сприяють зміні механіки дихання з віком, що призводять до розвитку пульмонологічного ризику.

**Ключові слова:** жінки похилого віку, механіка дихання, пульмонологічний ризик.

**Bukova A.V. Respiratory mechanics peculiarities in aged women / A.V. Bukova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 83-90.**

Study of respiratory mechanics in aged women was performed. Different levels in ventilatory abilities were revealed. Factors promoted aged changes in respiratory mechanics, which lead to high pulmonary risk were determined.

**Keywords:** aged women, respiratory mechanics, pulmonary risk.

*Поступила в редакцію 14.05.2011 г.*

**УДК: [612.66+616-092]: 577.15**

## **ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В МОЗГЕ И ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ**

*Волкова Ю.В.*

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», Симферополь,  
Украина  
E-mail: volkova1804@mail.ru*

Исследования показали, что при иммобилизационном стрессе у 12- и 24-месячных животных не изменяется концентрация мочевины, мочевой кислоты и билирубина в постмитохондриальной фракции печени, у 2-месячных крыс происходит повышение концентрации мочевой кислоты и билирубина, а у 1,5-месячных крыс - накопление мочевой кислоты. В постмитохондриальной фракции мозга 1,5-месячных иммобилизованных крыс повышается концентрация мочевины. Тогда как для других исследованных возрастных групп не характерно изменение концентрации мочевины и мочевой кислоты при стрессе.

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, мозг, печень, низкомолекулярные антиоксиданты.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Ранее нами было установлено, что в процессе онтогенеза происходит изменение чувствительности мозга к эффекту прооксидантных факторов стресса [1–3]. Следствием возникновения подобного сдвига может быть появление возрастных особенностей в устойчивости организма к действию повреждающих факторов стресса [2, 3]. Принимая во внимание роль эндогенных низкомолекулярных антиоксидантов в обеспечении устойчивости клеток к прооксидантным воздействиям [4, 5], в работе было предпринято изучение уровня некоторых метаболитов, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами, в мозге и печени крыс разного возраста при стрессе.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В работе использовали крыс самцов линии Вистар четырех возрастных групп: I – 1,5-месячные (ранний пубертат), II – 2-месячные (поздний пубертат), III – 12-месячные (взрослые половозрелые) и IV – 24-месячные (старые). Животных всех этих возрастных групп, делили на 2 подгруппы: 1 – интактные и 2 – крысы, подвергнутые иммобилизационному стрессу. Для моделирования иммобилизационного стресса их привязывали к неподвижной опоре по 5 часов в день в течение 2 дней. Возникновение стресса контролировали по уровню 11 – оксикортикостероидов в крови.

Немедленно после иммобилизации крыс декапитировали под легким эфирным наркозом. Извлекали мозг и помещали в охлажденный до 4°C физиологический раствор. Навеску мозга гомогенизировали со средой выделения, содержащей 320 мМ сахарозы, 10 мМ Tris и 1 мМ ЭДТА (рН 7,4), в гомогенизаторе Поттера – Эльвегейма в соотношении 1:10. Для гомогенизирования печени использовали среду выделения, содержащую 250 мМ сахарозы, 10 мМ Tris и 1 мМ ЭДТА (рН 7,2). Гомогенаты фильтровали через 2 слоя марли в центрифужные пробирки и центрифугировали при 20 минут при 10000g. Полученную надосадочную жидкость использовали для определения содержания мочевины и мочевой кислоты, с помощью коммерческих наборов реактивов для их энзимологического определения, а в печени еще и для определения содержания общего билирубина.

Содержание белка определяли по методу Лоури [6].

Полученные результаты подвергали статистической обработке при помощи непараметрического метода Wilcoxon-Mann-Whitney.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что содержание мочевой кислоты и мочевины в постмитохондриальной фракции мозга на протяжении всего исследованного периода онтогенеза не изменяется и находится на одинаковом уровне (табл. 1).

**Таблица 1**

**Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в постмитохондриальной фракции мозга крыс при иммобилизации ( $M \pm m$ ;  $n = 5-6$ )**

Показатели	1,5 мес		2 мес		12 мес		24 мес	
	Интактные	Стресс	Интактные	Стресс	Интактные	Стресс	Интактные	Стресс
Мочевая кислота, нмоль/мг белка	184,50± 30,66	120,57± 43,43	212,09± 24,56	176,26± 33,05	149,72± 26,34	144,51± 37,09	209,24± 17,45	184,44± 14,10
Мочевина, мкмоль/мг белка	4,40± 0,84	8,87± 0,98*	3,66± 0,61	3,10± 0,17	2,61± 0,27	4,48± 1,65	2,33± 0,39	2,51± 0,44

Примечание: \* -  $p < 0,05$  к интактным

В печени крыс обнаружены возраст-зависимые изменения в содержании этих продуктов метаболизма (табл. 2). Так, содержание мочевины в постмитохондриальной фракции данного органа с возрастом прогрессивно уменьшается. Максимальная ее концентрация выявляется у 1,5-месячных, а минимальная – у 24-месячных животных. Возрастная динамика содержания мочевой кислоты в печени имеет сложный характер. В 2-месячном возрасте ее концентрация существенно ниже, чем в 1,5- и 12-месячном возрасте. Причем содержание мочевой кислоты у 12-месячных животных на 33% выше, чем у 1,5-

месячных. Аналогичным образом концентрация билирубина в печени оказывается минимальной у 2-месячных, а максимальной – у 24-месячных крыс.

**Таблица 2**  
**Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в постмитохондриальной фракции печени крыс при иммобилизации ( $M \pm m$ ;  $n = 5-6$ )**

Показатели	1,5 мес		2 мес		12 мес		24 мес	
	Интактные	Стресс	Интактные	Стресс	Интактные	Стресс	Интактные	Стресс
Билирубин, мкг/мг белка	0,56± 0,04	0,65± 0,06	**0,36± 0,05	0,59± 0,02*	0,58± 0,05	1,05± 0,25	1,12± 0,37	0,51± 0,10
Мочевая кислота, нмоль/мг белка	65,65± 5,42	95,49± 4,62*	**28,63± 2,45	58,64± 9,38*	**93,50± 7,65	105,32± 8,41	**46,57± 5,64	57,91± 1,35
Мочевина, мкмоль/мг белка	1,56± 0,20	1,91± 0,25	1,13± 0,16	0,58± 0,08*	0,94± 0,24	1,36± 0,15	0,89± 0,21	1,06± 0,32

Примечание: \* -  $p < 0,05$  к интактным; \*\* -  $p < 0,05$  к интактным 1,5 месячным

Иммобилизация животных не сопровождается изменением содержания мочевой кислоты в постмитохондриальной фракции мозга крыс всех исследованных возрастных групп. В тоже время у 1,5-месячных иммобилизованных животных происходит увеличение содержания мочевины на 78%, по сравнению с ее исходным уровнем, что, не характерно для крыс всех остальных исследованных возрастных групп.

В отличие от мозга, печень проявляет высокую лабильность в отношении содержания исследованных метаболитов при стрессе. Так в постмитохондриальной фракции этого органа 1,5- и 2-месячных животных происходит увеличение содержания мочевой кислоты на 44% и 155 % соответственно, по сравнению с ее исходным уровнем. У крыс старших возрастных групп выявляется всего лишь тенденция к формированию подобного сдвига. Аналогичным образом у 1,5-, 12- и 24-месячных животных возникает тенденция и к увеличению содержания мочевины. В тоже время у 2-месячных крыс после иммобилизации происходит уменьшение ее концентрации на 36%, по сравнению с ее исходной величиной. Одновременно с этим у них возрастает содержание билирубина на 44%, по сравнению с таковым у 2-месячных интактных животных, хотя у крыс других возрастных групп оно остается на исходном уровне.

Проведенные исследования показали, что в процессе восходящего онтогенеза в постмитохондриальной фракции мозга крыс поддерживается постоянная концентрация мочевой кислоты и мочевины. В тоже время в печени происходит зависящая от возраста модуляция уровня этих продуктов метаболизма.

Возрастные сдвиги в концентрации мочевины, мочевой кислоты и билирубина в постмитохондриальной фракции печени не имеют однонаправленного характера. Вместе с тем, анализ полученных результатов свидетельствует о выраженном уменьшении их содержания в печени у крыс позднего пубертатного возраста. У старых животных выявляется существенное понижение уровня мочевины и мочевой кислоты, которое, тем не менее, сопровождается параллельным увеличением концентрации билирубина, по сравнению с таковым в 1,5-месячном возрасте.

Принимая во внимание результаты проведенных исследований, а также выраженную антиоксидантную активность у всех исследованных продуктов метаболизма [4, 5], можно прийти к заключению о том, что у крыс позднего пубертатного возраста возникают предпосылки для понижения мощности системы антиоксидантной защиты цитозоля гепатоцитов. Следствием того становится повышение базального уровня ПОЛ в клетках печени на данном этапе онтогенеза. Предрасположенность к возникновению сдвига подобной направленности, по всей вероятности, возникает и при старении.

В отличие от печени, мозг проявляет высокую устойчивость к изменению содержания мочевины и мочевой кислоты в его постмитохондриальной фракции. Это отражает высокую резистентность нервной ткани к изменению ее гомеостаза [7]. Характерно, что устойчивость мозга к изменению концентрации исследованных конечных продуктов азотистого обмена сохраняется и в условиях иммобилизационного стресса. Единственный возникающий при этом сдвиг, связанный с повышением концентрации мочевины в мозге у 1,5-месячных иммобилизованных крыс, по всей вероятности, не оказывает влияния на суммарную мощность антиоксидантной системы нервных клеток. Очевидно, он всего лишь отражает возрастное увеличение скорости распада белков и аминокислот в нервной ткани при иммобилизации.

В печени крыс при стрессе, в отличие от мозга, происходит значительное изменение концентрации мочевины, мочевой кислоты и билирубина. Однако оно характерно только для крыс пубертатного возраста (1,5 и 2 месяца). Его проявлением у 2-месячных животных становится выраженное увеличение содержания мочевой кислоты и билирубина. Несмотря на одновременное понижение у них концентрации мочевины, можно предположить, что суммарным эффектом возникающих сдвигов при этом будет повышение мощности антиоксидантной системы в цитозоле гепатоцитов. В условиях исходно сниженного содержания данных метаболитов в постмитохондриальной фракции печени 2-месячных крыс, при стрессе это, несомненно, приобретает характер компенсаторного сдвига.

У 1,5-месячных животных при иммобилизации выявляется всего лишь тенденция к накоплению исследованных продуктов метаболизма в печени, которая реализуется в существенный сдвиг только в отношении мочевой кислоты. В то же время у взрослых и старых животных при стрессе не происходит существенных изменений в содержании мочевины, мочевой кислоты и билирубина в постмитохондриальной фракции печени.

Резюмируя выше изложенное, можно прийти к заключению о том, что мозг обладает высокой устойчивостью к возрастному изменению содержания конечных продуктов азотистого обмена (мочевины и мочевой кислоты) даже в условиях выраженного стрессорного воздействия. Печень, в отличие от мозга, проявляет лабильность в отношении уровня этих метаболитов. В большей мере она проявляется в периоде полового созревания и при старении. В позднем пубертатном возрасте в цитозоле клеток печени возникает определенное “напряжение” в азотистом обмене, следствием которого становится понижение мощности антиоксидантной защиты цитозоля, за счет понижения содержания в нем конечных продуктов метаболизма, обладающих выраженной антиоксидантной активностью. Причиной того может быть характерная для этого возраста перестройка в системе гормональной регуляции метаболизма. Уменьшение содержания низкомолекулярных антиоксидантов предопределяет повышение базального уровня процессов свободнорадикального окисления липидов в печени на данном этапе онтогенеза. В условиях стресса в гепатоцитах возникают компенсаторные сдвиги, связанные с накоплением продуктов азотистого обмена, проявляющих антиоксидантные свойства. Однако их реализация в повышение устойчивости печени к стрессорному поражению требует специального изучения.

### **ВЫВОДЫ**

1. В процессе восходящего онтогенеза в постмитохондриальной фракции мозга не происходит изменения содержания мочевины и мочевой кислоты. В постмитохондриальной фракции печени крыс 2 месячного возраста понижается содержание мочевины, мочевой кислоты и билирубина, по сравнению с таковой у 1,5-месячных крыс. Аналогичная ситуация с содержанием мочевой кислоты и мочевины возникает и у старых крыс, однако уровень билирубина у них повышается.
2. При стрессе у 2-месячных крыс происходит повышение концентрации мочевой кислоты и билирубина в постмитохондриальной фракции печени, а у 1,5-месячных крыс – накопление мочевой кислоты. У 12- и 24-месячных животных иммобилизации не сопровождается изменением концентрации исследованных метаболитов в постмитохондриальной фракции печени.
3. В постмитохондриальной фракции мозга 1,5-месячных иммобилизованных крыс повышается концентрация мочевины. Для животных 2-, 12- и 24-месячного возраста не характерно изменение концентрации мочевины и мочевой кислоты при стрессе.

### **Список литературы**

1. Lopez-Torres M., Perez-Campo R., Rojas C. et al. Sensitivity to in vitro lipid peroxidation in liver and brain of aged rats. // *Rev. Esp. Fisiol.* – 1992. -- Vol.48, N3. – P.191--196.
2. Romeo R.D., McEwen B.C. Stress and the adolescent brain // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2006. – Vol.1094. -- P.226--234.
3. Toledo-Rodriguez M., Sandi C. Stress before puberty exerts a sex- and age-related impact on auditory and contextual fear conditioning in the rat // *Neural Plast.* – 2007. – Vol.2007. -- P.71203.

4. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–17.
5. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. – М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
6. Protein measurement with the Pholin phenol reagent. / O.H. Lowry, K.J. Rosenbrough, A.L. Farr, K.I. Rendall. // J.Biol.Chem. - 1955. – Vol.193, N1. -- P.265--267.
7. Svennerholm L., Bostrum K., Helander C.G. et al. Membrane lipids in the aging human brain // Neurochemistry. – 1990. – Vol.12. – P.547--554.

**Волкова Ю.В. Вікові особливості зміни вмісту низькомолекулярних антиоксидантів у мозку і печінці щурів в умовах іммобілізаційного стресу / Ю.В. Волкова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 91-96.**

Дослідження показали, що при іммобілізаційному стресі у 12- і 24-місячних тварин не змінюється концентрація сечовини, сечової кислоти та білірубину в постмітохондріальній фракції печінки, у 2-місячних щурів відбувається підвищення концентрації сечової кислоти і білірубину, а в 1,5-місячних щурів – накопичення сечової кислоти. В постмітохондріальній фракції мозку 1,5-місячних іммобілізованих щурів підвищується концентрація сечовини. Тоді як для інших досліджених вікових груп не є характерною зміна концентрації сечовини і сечової кислоти при стресі.

**Ключові слова:** іммобілізаційний стрес, мозок, печінка, низькомолекулярні антиоксиданти.

**Volkova Y.V. Age-specific peculiarities of the change in low-molecular antioxidant level in rat brain and liver under conditions of immobilization stress / Y.V. Volkova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 91-96.**

It has been shown that immobilization of 12- and 24-month-old rats was not accompanied by a change in urea, uric acid and bilirubin concentrations in postmitochondrial fraction of liver. In 2-month-old rats the immobilization was accompanied by an increase in uric acid and bilirubin concentrations, in 1,5-month-old rats it was accompanied by an increase in uric acid concentration. In brain postmitochondrial fraction of 1,5-month-old rats immobilization was accompanied by an increase in urea concentration, while a change in urea or uric acid concentration wasn't characteristic for the rats of older age groups under conditions of stress.

**Keywords:** immobilization stress, brain, liver, low-molecular antioxidants.

*Поступила в редакцію 19.05.2011 г.*



**УДК 615.796.33**

## **РОЛЬ ЭМИ КВЧ В КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ И ТИПОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА СПОРТСМЕНОВ**

*Грабовская Е.Ю., Нагаева Е.И., Назар М.О.*

*Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: grabovskaya13@mail.ru*

Изучено влияние низкоинтенсивных электромагнитных излучений крайне высокой частоты на развитие неспецифических адаптационных реакций организма и функциональное состояние симпатoadреналовой системы спортсменов. Показано, что под влиянием электромагнитных излучений крайне высокой частоты происходит изменение типа неспецифических адаптационных реакций организма, снижается активность симпатoadреналовой системы спортсменов.

**Ключевые слова:** электромагнитное излучение крайне высокой частоты, неспецифические адаптационные реакции организма, эритроциты, катехоламины, симпатoadреналовая система, спортсмены.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Установлено, что симпатoadреналовая система (САС) принимает участие в формировании адаптационных реакций организма на действие раздражителей различной природы и интенсивности [1–3]. Наиболее доступным и информативным тестом, адекватно характеризующим функциональную активность САС, является цитохимический анализ катехоламинов в эритроцитах периферической крови [4]. Многочисленными исследованиями установлено, что содержание катехоламинов в эритроцитах коррелирует с уровнем адреналина и норадреналина в плазме крови [5]. Другим показателем, адекватно характеризующим состояние организма, является лейкоцитарная формула – интегральный показатель эффективности общих неспецифических адаптационных реакций организма при действии на него неспецифических раздражителей, к которым относится и физическая нагрузка [6].

Одним из важнейших условий интенсификации тренировочного процесса и дальнейшего повышения спортивной работоспособности является широкое и систематическое использование восстановительных средств. В связи с этим восстановление спортивной работоспособности и нормального функционирования организма является неотъемлемой составной частью системы подготовки спортсменов, а внедрение в тренировочный процесс методов специального повышения работоспособности особенно актуально [7, 8].

Современная физиотерапия располагает большим арсеналом природных и искусственных физических факторов, обладающих выраженной физиологической и

терапевтической активностью. Все эти факторы в условиях повышенных тренировочных нагрузок рекомендуются спортивной медициной с профилактической и оздоровительной целью для поддержания высокой работоспособности и ускорения восстановления, предупреждения перетренированности, перенапряжений и травм, а также при появлении начальных признаков патологических процессов в организме для ослабления их развития и дальнейшего лечения [7–9].

В этом плане перспективным может оказаться применение низкоинтенсивных электромагнитных излучений (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ). Данные различных авторов говорят о том, что этот физический фактор обладает высокой биологической активностью, изменяет функциональное состояние многих физиологических систем, повышает неспецифическую резистентность, лимитирует развитие стресс-реакции, а также хорошо сочетается с другими методами, не имеет отдаленных, неблагоприятных последствий и абсолютных противопоказаний [10–12]. Однако в литературе практически нет сведений о влиянии ЭМИ КВЧ на развитие неспецифических адаптационных реакций и функциональное состояние симпатoadренальной системы организма спортсменов.

В связи с этим, целью исследования явилось изучение влияния ЭМИ КВЧ на изменение неспецифических адаптационных реакций и содержание катехоламинов в эритроцитах крови спортсменов.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследовании принимали участие 37 человек в возрасте 18-20 лет, занимающихся спортом не менее 3-5 лет: 14 спортсменов-игровиков (футбол, баскетбол), квалификация – 1 разряд; 9 спортсменов-единоборцев, имеющих квалификацию от 1 разряда до мастера спорта; 14 студентов, не занимающихся спортом. Все обследуемые систематически тренировались (не менее 8-10 часов в неделю).

Источником ЭМИ КВЧ служил терапевтический генератор “КВЧ. РАМЕД-ЭКСПЕРТ–01”(ТМ 158.00.00.00), с рабочей длиной волны – 7,1мм; несущей частотой электромагнитных колебаний излучателей – 42194±20 МГц, частотой модуляции 10±0,1 Гц, габаритными размерами излучателя типа «точка» 18х24 мм. [13].

Воздействие производилось на биологически активную точку VC17 (таньчжун), которая обладает общефункциональным терапевтическим действием на основные системы организма [14,15]. Излучатель прикреплялся на передней средней линии груди, на уровне четвертого межреберья, на горизонтальной линии сосков (чуть выше) или во впадине грудины, на уровне вырезки 5 ребра (обследуемый находился в положении сидя). Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось ежедневно (не учитывая субботы и воскресенья) с 9 до 11 часов. Продолжительность воздействия – 30 минут. Забор крови проводили в одно и то же время до начала курса КВЧ-воздействия (фоновое значение), а также после 1-го, 5-го и 10-го сеансов КВЧ. Условия взятия материала во всех экспериментах были стандартизированы.

Лейкоцитарная формула определялась в мазках крови, окрашенных по Романовскому, путем подсчета 100 клеток [16]. Затем определялся тип неспецифической адаптационной реакции организма (НАРО) по отношению лимфоцитов (Л) к сегментоядерным нейтрофилам (Нс). В соответствии с критерием определения неспецифических адаптационных реакций по лейкоцитарной формуле у человека, разным типам НАРО соответствует разная величина отношения Л/Нс: стресс-реакция – не более 0,3; реакция тренировки – 0,31-0,5; реакция спокойной активации – 0,51-0,7; реакция повышенной активации – 0,71-0,9; реакция переактивации – более 0,9. Остальные клетки белой крови являются дополнительными признаками реакций, свидетельствуют о физиологичности реакций, степени полноценности, степени напряженности и отношения к общепринятым границам нормы [6].

Для оценки функциональной активности симпатoadреналовой системы определяли цитохимический показатель содержания (ЦПС) катехоламинов (КА) в эритроцитах периферической крови по методу [4] на основании дифференцированного подсчета 100 клеточных элементов в соответствии с принципом L.S.Karlow (1955) [17]. Оценка достоверности полученных результатов проводилась с помощью t-критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали проведенные исследования, под влиянием ЭМИ КВЧ на биологически активную точку VC 17 у спортсменов разных специализаций и у студентов, не занимающихся спортом, происходит изменение типа НАРО (рис. 1-3).

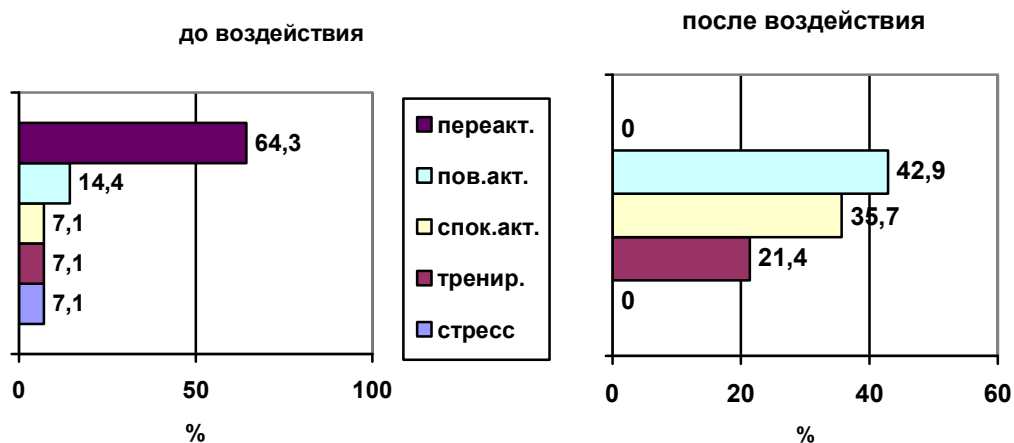


Рис.1. Изменение типов неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО) в течение курса КВЧ-воздействия у спортсменов-игровиков.

Так, до КВЧ-воздействия, в группе обследованных спортсменов-игровиков исходный уровень адаптационных процессов был следующим: у 1 человека (7,1% от общего количества обследованных) выявлена реакция стресса, у 1 человека (7,1%) -

тренировки, у 1 человека (7,1%) – спокойной активации, у 2 человек (14,4%) – повышенной активации, у 9 человек (64,3%) – переактивации (рис.1). У спортсменов-единоборцев наблюдался аналогичный исходный уровень адаптационных процессов: у 2 человек (22% от общего количества обследованных) выявлена реакция тренировки, у 1 человека (11%) – спокойной активации и у 6 человек (67%) – переактивации (рис.2).

По мнению Л.Х.Гаркави и Е.Б.Квакиной (1996) [18], адаптационная реакция переактивации свидетельствует об избыточной активности ЦНС, эндокринной системы и системы клеточного иммунитета, а также о том, что скорость расходования энергодающих субстратов значительно превышает их воспроизводство и, в конечном итоге, приводит к истощению или блокированию их запасов в организме.

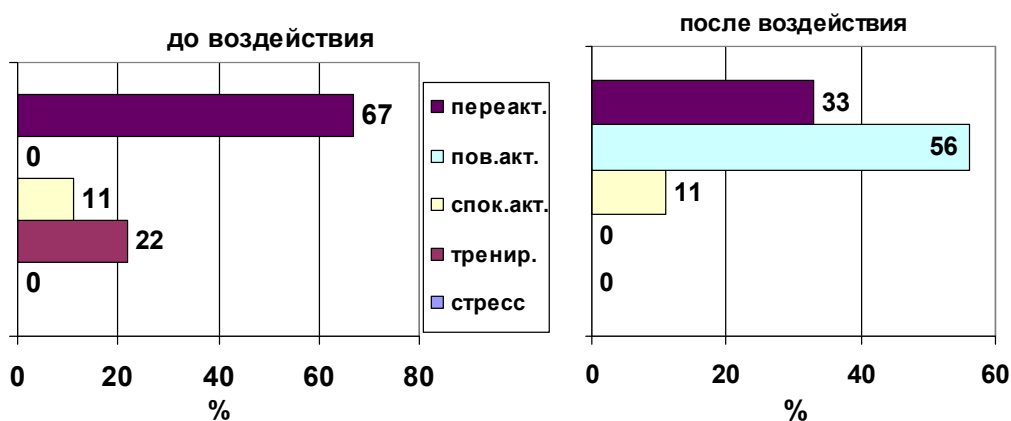


Рис.2. Изменение типов неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО) в течение курса КВЧ-воздействия у спортсменов-единоборцев.

У студентов, не занимающихся спортом, исходный уровень адаптационных процессов был следующим: у 1 человека (7% от общего количества обследованных) выявлена реакция стресса, у 3 человек (22%) – реакция тренировки, у 7 человек (49%) – спокойной активации, у 2 человек (14%) – повышенной активации, у 1 человека (7%) – переактивации (рис.3). Т.е., у большинства обследуемых (63%) выявлена реакция спокойной и повышенной активации, хотя встречаются и крайние реакции – стресса и переактивации.

После 10 сеансов воздействия ЭМИ КВЧ в группе обследованных спортсменов-игровиков произошло изменение качества НАРО: реакции стресса и переактивации не зафиксированы. Адаптационная реакция тренировки определялась у 3 спортсменов (21,4%), спокойной активации – у 5 (35,7%) и повышенной активации – у 6-и человек соответственно (42,9%) (рис.1).

Реакции тренировки, спокойной и, особенно, повышенной активации носят антистрессорный характер и характеризуются высокой функциональной активностью тимико-лимфатической системы и клеточного иммунитета,

эндокринных желез и ЦНС, особенно при повышенной активации [6]. Можно говорить, что метаболизм у большинства спортсменов-игровиков приобрел анаболический характер, энергетический обмен характеризуется высокими скоростями метаболизма энергоотдающих субстратов при хорошей сбалансированности их расхода и потребления.

В группе обследованных спортсменов-единоборцев после 10-кратного КВЧ-воздействия распределение НАРО было несколько другим: реакция переактивации по-прежнему зафиксирована у 3 спортсменов (33% от общего количества обследованных). Адаптационные реакции спокойной и повышенной активации определялись у 1-го и 5-и человек соответственно (67%) (рис.2). Полученные результаты свидетельствуют о более низкой реактивности спортсменов-единоборцев на действие ЭМИ КВЧ.

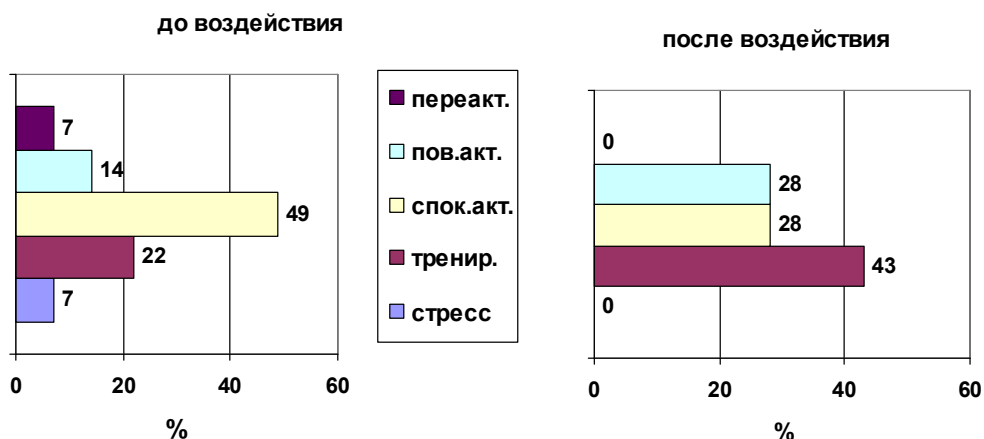


Рис.3. Изменение типов неспецифических адаптационных реакций организма (НАРО) в течение курса КВЧ-воздействия у студентов, не занимающихся спортом.

В группе студентов, не занимающихся спортом, после 10 сеансов КВЧ также произошло изменение качества НАРО: реакции стресса и переактивации не обнаруживаются, реакции тренировки зафиксированы у 6 человек (43%), реакции спокойной и повышенной активации – у 8 человек (56%) (рис. 3). Так же как и в группе спортсменов-игровиков, в данном случае можно говорить о том, что функциональное состояние организма обследуемых характеризуется сбалансированностью энергетических процессов и высокими скоростями метаболизма энергоотдающих субстратов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что после 10-кратного воздействия ЭМИ КВЧ на биологически активную точку VC17 у обследуемых спортсменов повышается резистентность к большим физическим и психоэмоциональным нагрузкам, сопровождающим спортивную деятельность. У студентов, не занимающихся спортом, происходит перераспределение типов НАРО с возрастанием доли реакций тренировки, спокойной и повышенной активации/

Многочисленными исследованиями установлено, что в формировании ответа организма на действие раздражителей различной природы и интенсивности является симпатoadренальная система. Оба ее звена – центральное гипоталамическое и периферическое адреномедуллярное – активно участвуют в формировании адаптационных реакций [2,12].

Наиболее доступным тестом, адекватно характеризующим функциональную активность САС, является цитохимический анализ катехоламинов (КА) в эритроцитах периферической крови [4]. Установлено, что содержание КА в эритроцитах коррелирует с уровнем адреналина и норадреналина в плазме крови [5].

Катехоламины, определяемые в эритроцитах цитохимическим способом, выявляются в виде гранул разного размера и разного количества.

В связи с тем, что в группе обследованных спортсменов-игровиков и единоборцев до начала воздействия ЭМИ КВЧ определялись различные типы НАРО и наиболее часто встречаемой была реакция переактивации, мы посчитали рациональным проследить динамику уровня КА в эритроцитах именно в этой группе.

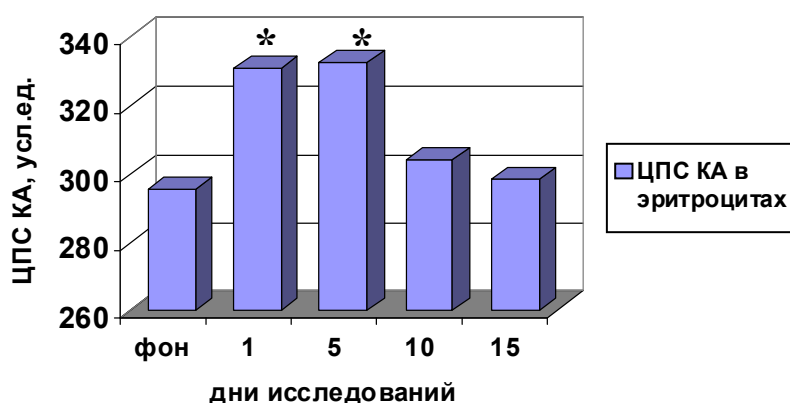


Рис.4. Изменение цитохимического показателя содержания (ЦПС) катехоламинов (КА) в эритроцитах периферической крови спортсменов-игровиков с исходным уровнем НАРО «переактивация» под действием электромагнитного излучения крайне высокой частоты; достоверность различий по сравнению с фоновым значением  $*-p \leq 0,05$

Так, до начала курса КВЧ-терапии, ЦПС КА в эритроцитах периферической крови спортсменов-игровиков с исходным уровнем НАРО «переактивация» составил  $295,60 \pm 3,76$  усл.ед. и колебался в группе от 283 до 313 усл.ед. После первого и пятого получасового воздействия ЭМИ КВЧ на биологически активную точку VC17 у спортсменов-игровиков ЦПС КА повышается до  $330,70 \pm 4,40$  усл.ед. (на 11,8%) и  $332,60 \pm 2,66$  усл.ед. (на 12,5%) соответственно ( $p \leq 0,05$ ) (рис.4).

После 10-кратного воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ цитохимический показатель содержания КА снижается и достигает уровня  $304,40 \pm 3,26$  усл.ед. Через 5 дней после окончания КВЧ-воздействия величина ЦПС КА в эритроцитах периферической крови спортсменов-игровиков снижается до  $298,20 \pm 3,16$  усл.ед. и практически возвращается к фоновым значениям этого показателя (рис.4).

Как было установлено ранее, под влиянием ЭМИ КВЧ увеличивается проницаемость мембран эритроцитов, что способствует возрастанию их депонирующей функции за счет высоких адсорбционных свойств этих клеток и наличия в их мембранах  $\beta$ -адренорецепторов [4,19,20]. В связи с этим мы можем предположить, что зафиксированное нами повышение ЦПС КА в эритроцитах уже после первого воздействия ЭМИ КВЧ может быть вызвано увеличением проницаемости мембран клеток. Однако после 10 воздействий на биологически активную точку VC17 ЦПС КА в эритроцитах снижается, что может говорить о снижении активности САС, а, следовательно, и о снижении концентрации КА в эритроцитах.

Полученные нами результаты, скорее всего, могут свидетельствовать о развитии двухфазной реакции, проявляющейся в первоначальном повышении депонирующей функции эритроцитов с последующим снижением активности САС.

В группе спортсменов-единоборцев до начала курса КВЧ-терапии ЦПС КА в эритроцитах периферической крови составил  $210,60 \pm 5,84$  усл.ед. и колебался в группе от 195 до 230 усл.ед. После первого, пятого и десятого получасового воздействия ЭМИ КВЧ на биологически активную точку VC17 у спортсменов-единоборцев ЦПС КА повышается до  $216,50 \pm 6,50$  усл.ед. (на 2,8%),  $234,33 \pm 4,73$  усл.ед. (на 11,3%,  $p \leq 0,03$ ) и  $236,78 \pm 5,10$  усл.ед. (на 12,4%,  $p \leq 0,01$ ) соответственно (рис. 5).

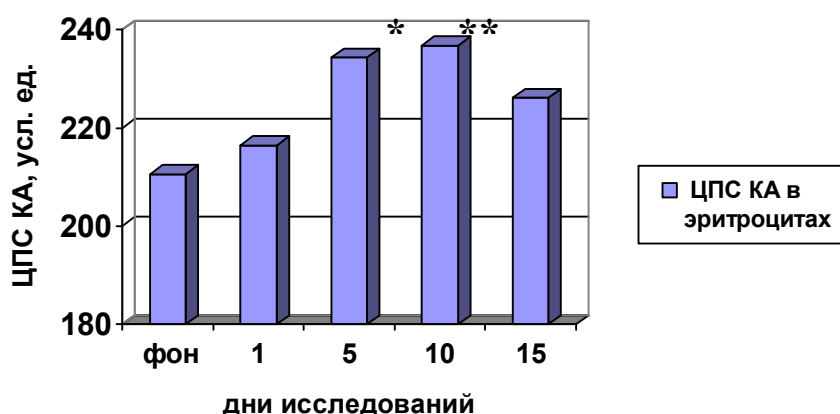


Рис.5. Изменение цитохимического показателя содержания (усл.ед.) катехоламинов в эритроцитах периферической крови спортсменов-единоборцев под действием электромагнитного излучения крайне высокой частоты; достоверность различий по сравнению с фоновыми значениями - \*  $p \leq 0,03$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ .

К 15 дню исследований уровень ЦПС КА в эритроцитах несколько снижается, но остается выше исходного уровня. Таким образом, в группе спортсменов-единоборцев под влиянием ЭМИ КВЧ развивается аналогичная двухфазная реакция, однако наибольшие изменения развиваются несколько позже – на 5-10 сутки воздействия. Под влиянием ЭМИ КВЧ активность симпатического и парасимпатического отделов приходит в некоторое равновесие.

В группе студентов, не занимающихся спортом, до начала курса КВЧ-терапии ЦПС КА в эритроцитах периферической крови составил  $305,62 \pm 4,18$  усл.ед. и колебался в группе от 280 до 334 усл.ед. После первого и пятого получасового воздействия ЭМИ КВЧ на биологически активную точку VC17 у обследуемых студентов ЦПС КА снижается до  $298,92 \pm 4,16$  усл.ед. (на 2,2%) и  $292,07 \pm 4,28$  усл.ед. (на 4,4%) соответственно (рис. 6.).

После десятого воздействия уровень ЦПС КА продолжает снижаться и достигает величины  $282,69 \pm 4,28$  усл.ед. ( $p \leq 0,02$ ), что на 7,5% меньше исходного уровня. На 15 сутки исследований уровень ЦПС КА в эритроцитах незначительно повышается – до  $288,10 \pm 4,60$  усл.ед. ( $p \leq 0,05$ ). Постепенное снижение уровня ЦПС КА под действием ЭМИ КВЧ может говорить об ограничении активности симпатoadренальной системы в организме студентов, не занимающихся спортом.

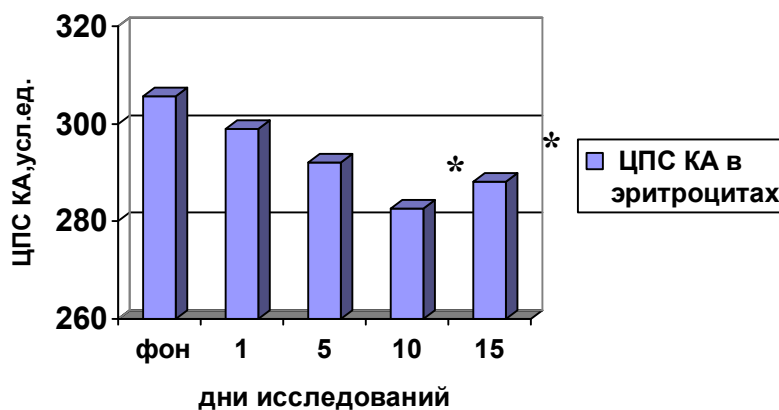


Рис.6. Изменение цитохимического показателя содержания (усл.ед.) катехоламинов в эритроцитах периферической крови студентов, не занимающихся спортом, под действием электромагнитного излучения крайне высокой частоты, достоверность различий по сравнению с фоновыми значениями - \*  $p \leq 0,05$ .

Полученные нами результаты могут служить доказательством того, что многократное воздействие на организм людей (в нашем случае – спортсменов различных специализаций и студентов, не занимающихся спортом), не имеющих отклонений в состоянии здоровья, может влиять на функциональную активность симпатoadренальной системы организма и приводит к развитию, в первую очередь, адаптационных реакций спокойной и повышенной активации [6, 12].



## ВЫВОДЫ

1. Под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного поля крайне высокой частоты произошло изменение уровня неспецифических адаптационных реакций организма и цитохимического показателя содержания катехоламинов в эритроцитах обследуемых спортсменов и студентов, не занимающихся спортом.
2. Во всех трех группах обследованных под влиянием ЭМИ КВЧ произошло изменение исходного уровня НАРО. До воздействия реакции переактивации были выявлены в 50-67% случаев во всех группах обследуемых. После 10 сеансов КВЧ-воздействия реакция переактивации зафиксирована только у спортсменов-единоборцев (33%), реакции тренировки, спокойной и повышенной активации определялись у 67-83% обследованных во всех группах.
3. После 10 сеансов КВЧ-воздействия в группах обследованных спортсменов и лиц, не занимающихся спортом, наблюдались разнонаправленные изменения ЦПС КА в эритроцитах крови. У спортсменов-игровиков и единоборцев произошло кратковременное повышение с последующим снижением ЦПС КА в эритроцитах периферической крови, причем реакция у спортсменов-единоборцев развивалась на 3-5 дней позже. У студентов, не занимающихся спортом, уровень ЦПС КА постепенно снижался.
4. Ежедневное получасовое воздействие ЭМИ КВЧ на биологически активную точку VC17 у спортсменов-игровиков и студентов, не занимающихся спортом, привело к снижению активности симпатoadреналовой системы. У спортсменов-единоборцев произошло увеличение активности симпатического отдела вегетативной нервной системы.

## Список литературы

1. Горизонтов П.Д. (ред.) Гомеостаз / Горизонтов П.Д. – М.: Медицина, 1981. – 576с.
2. Иерархические взаимоотношения между органами гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) при воспалении /В.В. Гриневич, Е.А. Поскребышева, Н.А. Савелов и [др. ] // Успехи физиол.наук. – 1999. – Т.30, №4. – С.50-66.
3. Пшенникова М.Г.Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Пат. физиол. – 2001. - №2 –С.26-30.
4. Мардарь А.И. Цитохимический способ выявления катехоламинов в эритроцитах / А.И. Мардарь, Д.П. Кладиенко // Лаб. Дело. – М. Медицина. 1986. – №10. – С. 586-588.
5. Малыгина В.И. Симпатoadреналовая система крыс при адаптации к гипокинезии: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук : спец. 03.00.13. «Физиология человека и животных» / В.И. Малыгина. – Кишинев, 1989.– 17 с.
6. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С.– М.: ИМЕДИС, 1998.– 656 с.
7. Платонов В.Н. Теория и методика спортивной тренировки / Платонов В.Н. – К.: Вища школа, 1984. – 348 с.
8. Зотов В.П. Восстановление работоспособности в спорте / Зотов В.П. – К. Здоровья, 1990. – 200 с.
9. Бирюков А.А. Средства восстановления работоспособности спортсмена / А.А. Бирюков, К.А. Кафаров - М.: Физкультура и спорт, 1979.- 252с.
10. Бецкий О.В. Миллиметровые волны низкой интенсивности в медицине и биологии / О.В. Бецкий, Н.Д.Девятков, В.В.Кислов // Зарубежная радиоэлектроника. – 1996. – №12. – С. 3-15.
11. Казаринов К.Д. Биологические эффекты КВЧ-излучения низкой интенсивности / К.Д. Казаринов // Итоги науки и техники. Серия Биофизика. – 1990. –Т. 27. – С. 1–104.

12. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ / [Е.Н. Чуян, Н.А. Темурьянц, О.Б. Московчук и др.]. – Симферополь: ЧП Эльиньо, 2003. – 448 с.
13. Биорезонансная информационно-пунктурная терапия с использованием электромагнитных волн (Практическое руководство) / [Пилипенко О.В., Яцуненко А.Г., Гринюк В.А., Камков В.П.]. – Днепропетровск, ИТМ НАНУ и НКАУ, 2007. – 248 с.
14. Гаава Лувсан. Очерки методов восточной рефлексотерапии / Гаава Лувсан. – Новосибирск: Наука, 1991. – 431 с.
15. Собецкий В.В. Клиническая рефлексотерапия / Собецкий В.В. – К.: Здоров'я, 1995. – 256 с.
16. Ронин В.С. Руководство к практическим занятиям по методам клинических лабораторных исследований / Ронин В.С., Старобинец Р.М., Утевский Н.Д. – М.: Медицина, 1977. – 335с.
17. Kaplow L.S. A histochemical procedure for localizing and evaluation leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow / L.S. Kaplow // Blood. – 1955. - №10. – P/1023-1029
18. Гаркави Л.Х. Понятие здоровья с позиции теории неспецифических адаптационных реакций организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина // Валеология. – 1996. – № 2. – С. 15–20.
19. Калинин М.И. Обмен катехоламинов и состояние тренированности / М.И. Калинин, В.Я. Кононенко // Эндокринные механизмы регуляции приспособлений организма к мышечной деятельности. – Тарту, 1974.– С.129-138.
20. Кулинский В.И. Механизм элиминации катехоламинов из кровотока и их инактивирования (Обзор литературы) / В.И. Кулинский // Проблемы эндокринологии.– 1968.–Т.14, №2.– С.115-125.

**Грабовська О.Ю. Роль ЕМВ НВЧ у корекції функціонального стану симпатoadренальної системи і типів неспецифічних адаптаційних реакцій організму спортсменів / О.Ю. Грабовська, О.І. Нагасва, М.О. Назар // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 97-106.**

Вивчено вплив низькоінтенсивного електромагнітного випромінювань надто високої частоти на розвиток неспецифічних адаптаційних реакцій організму і функціональний стан симпатoadренальної системи спортсменів. Показано, що під впливом електромагнітних випромінювань надто високої частоти відбувається зміна типу неспецифічних адаптаційних реакцій організму, знижується активність симпатoadренальної системи спортсменів.

**Ключові слова:** електромагнітне випромінювання вкрай високої частоти, неспецифічні адаптаційні реакції організму, еритроцити, катехоламіни, симпатoadреналова система, спортсмени.

**Grabovskaya E. Role of ultra-high frequency electromagnetic field (UNF EMF) in the functional correction of the sympathoadrenal system and the types nonspecific adaptation reactions of the organism in athletes / E. Grabovskaya, E. Nagaeva, M. Nazar // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 97-106.**

The work is devoted to the study of ultra-high frequency electromagnetic field (UNF EMF) on the development of nonspecific adaptation reactions and the content of catecholamines in erythrocytes athletes. It is shown that under the ultra-high frequency electromagnetic field (UNF EMF) of extremely high frequency changes the type of nonspecific adaptation reactions of the organism, changing the content of catecholamines in erythrocytes athletes.

**Keywords:** ultra-high frequency electromagnetic field, non-specific adaptation reactions of the organism, erythrocytes, catecholamines, sympathoadrenal system, athletes.

*Поступила в редакцію 24.05.2011 г.*

**УДК 612.33+612.015.13+612.015.31**

## **ВПЛИВ ТАУРИНУ НА ІОННИЙ СКЛАД ШЛУНКОВОГО СОКУ ПРИ СТИМУЛЯЦІЇ СЕКРЕЦІЇ ГІСТАМІНОМ У СОБАК**

*Грінченко О.А., Бабан В.М., Янчук П.І.*

*НДІ фізіології імені академіка Петра Богача ННЦ «Інститут біології» Київського  
національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна  
E-mail: olgrinch@ukr.net*

В умовах хронічного експерименту на безпородних собаках з фістулами шлунка досліджували вплив таурину на концентрацію іонів натрію і калію в шлунковому соці, стимульованому гістаміном. Показано, що таурин в дозі 1,4 мг/кг маси тіла тварини збільшує концентрацію іонів натрію в шлунковому соці на початку досліду при застосуванні амінокислоти за 15 хвилин до введення гістаміну (0,05 мг/кг) і зменшує концентрацію іонів калію впродовж перших 60-ти хвилин досліду при введенні таурину як за 15 хвилин, так і за 2 години до застосування стимулятора.

**Ключові слова:** таурин, шлункова секреція, іонний обмін,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ .

### **ВСТУП**

Аналіз даних літератури свідчить, що таурин функціонує в організмі як модулятор іонних струмів, є одним із регуляторів трансмембранного транспорту іонів хлору, натрію, калію, кальцію та задіяний в підтриманні електричного заряду на мембранах клітин [1–5]. Зміни концентрації цих іонів в секреторних клітинах шлункових залоз супроводжують процеси секреції шлункового соку. Відомо, що амінокислоти L-типу можуть стимулювати шлункову секрецію через активацію  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливих рецепторів на парієтальних клітинах в присутності фізіологічних концентрацій позаклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  [6]. Збільшення в середовищі ізольованих парієтальних клітин концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  за відсутності стимуляторів секреції спричиняє дозозалежне збільшення виходу іонів  $\text{H}^+$  з цих клітин. Такі ефекти посилюються додаванням у середовище амінокислот. В присутності L-фенілаланіну блокада  $\text{H}_2$ -гістамінових рецепторів циметидином або гальмування системи транспорту L-амінокислот не впливають на вихід іонів  $\text{H}^+$  з клітин. Ці дані підтверджують гіпотезу, що амінокислоти у поєднанні з фізіологічними концентраціями  $\text{Ca}^{2+}$  можуть викликати кислу шлункову секрецію через алостеричну активацію  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливих рецепторів шлунка незалежно від гормональної стимуляції [6]. Отже, рівень секреції шлункового соку залежить від концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в секреторних клітинах [7]. Разом з тим, секреція складових шлункового соку залежить від концентрації інших іонів в клітинах залоз. Так, процеси осмотичної фільтрації води в шлунку і секреції соляної кислоти парієтальними клітинами тісно пов'язані зі змінами концентрації  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  в клітинах слизової оболонки шлунка. Крім того, за умов активації секреторного процесу

також відбуваються зміни іонного складу шлункового соку. Результати наших попередніх досліджень свідчать, що таурин змінює шлункову секрецію слизу в міжтравний період, а також значно посилює шлункову секрецію, стимульовану гістаміном. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив цієї амінокислоти на концентрацію іонів натрію і калію в шлунковому соці, стимульованому гістаміном.

#### **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Дослідження проводились в умовах хронічного експерименту на клінічно здорових безпородних собаках обох статей з вживленою у фундальний відділ шлунка фістульною трубкою по В.А.Басову-І.П.Павлову. Всі операції здійснювались із дотриманням умов асептики і антисептики з використанням в якості наркозу препарату «Каліпсовет плюс» (діюча речовина – кетаміну гідрохлорид, в дозі 10 мг/кг комбіновано з ксилазином в дозі 0,5 мг/кг маси тіла тварини, внутрішньовенно). Експерименти розпочинали через 3 тижні після оперативного втручання, тобто після повного одужання тварин. Досліди проводились на голодних (18-20 годин після останньої годівлі) собаках. Інтервал між дослідями становив 2-3 дні.

Вивчали вплив таурину (Sigma, USA) в дозі 1,4 мг/кг маси тіла собак на шлункову секрецію, стимульовану гістаміном (“Здоров’я”, Україна, в дозі 0,05 мг/кг маси тіла, підшкірно, одноразово). У першій серії дослідів таурин в зазначеній дозі вводили тваринам внутрішньошлунково і через 15 хвилин вводили гістамін, після чого збирали шість п’ятнадцятихвилинних проб шлункового соку. У другій серії дослідів амінокислоту застосовували в тій же дозі *per os* і через 2 години вводили собакам гістамін. У третій серії таурин застосовували *per os* і через 14 годин вводили собакам стимулятор секреції.

Для оцінки ефекту цієї амінокислоти на шлункову секрецію враховували зміни рівня шлункової секреції і вимірювали кількість продукованого шлунковими залозами тварин секрету (мл) за кожні 15 хвилин впродовж 1,5 години секреції та біохімічного складу шлункового соку. У кожній відібраній пробі шлункового соку визначали вміст вільної соляної кислоти (ммоль), пепсину (мг), загального білка (мг). На основі визначених концентрацій досліджуваних речовин у пробах шлункового соку розраховували дебіт цих складових, перемножуючи їх кількість в одиниці об’єму на величину п’ятнадцятихвилинної порції секрету.

Концентрацію іонів натрію і калію у п’ятнадцятихвилинних пробах шлункового соку визначали методом полум’яної фотометрії [8]. Для цього до 50 мкл відфільтрованого шлункового соку додавали 4 мл дистильованої води, перемішували і досліджували ці розчини фотометрично на полум’яному фотометрі. Контролем слугували стандартні розчини з відомою концентрацією іонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$ . Кількісну оцінку проводили по калібрувальних кривих, побудованих за стандартними розчинами і розраховували концентрацію іонів натрію і калію в ммоль/л.

Контролем для цих досліджень слугували спроби із підшкірним введенням тваринам відповідної кількості гістаміну. Кількість і хімічний склад шлункового соку порівнювали з такими в контрольних дослідях. Різниця в показниках рівня

шлункової секреції і якості шлункового соку дозволяла певним чином судити про ефект амінокислоти на шлункову секрецію.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою пакету прикладних програм «Statistica 6.0» з використанням t-критерію Ст'юдента, оскільки дані мали нормальний розподіл при їх перевірці за допомогою тесту Шапіро–Уїлка. Достовірними вважалися відмінності між контролем і дослідом при  $p < 0,05$ .

Дослідження на тваринах проведені з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Прилади, які використовувались для наукових досліджень, пройшли метрологічний контроль.

### **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Результати наших досліджень свідчать, що таурин в дозі 1,4 мг/кг маси тіла тварини збільшує всі показники шлункової секреції, стимульованої гістаміном, у собак. Збільшення об'єму шлункового соку в наших дослідах супроводжувалось значним зростанням вмісту соляної кислоти в соці, причому при застосуванні таурину за 14 годин до введення гістаміну вірогідне збільшення дебіту вільної соляної кислоти спостерігалось вже в першій п'ятнадцятихвилинній пробі і тривало до кінця досліду. Таурин посилював і секрецію пепсиногену в наших експериментах. Результати дослідів показали, що дебіт пепсину під впливом таурину збільшувався в усіх проведених серіях досліджень впродовж всього часу спостереження. Після введення таурину за 14 годин до ін'єкції гістаміну спостерігалось збільшення дебіту загального білка в соці, починаючи вже з першої проби і до кінця досліду. Найбільш вираженими зміни об'єму шлункового соку, дебіту вільної соляної кислоти, пепсину і загального білка в ньому були в серії експериментів із використанням таурину за 14 годин до введення гістаміну. Таким чином, отримані нами результати свідчать про те, що зміни шлункової секреції можуть бути пов'язані зі змінами концентрації таурину в крові, проте найбільшою мірою проявлявся відставлений в часі ефект амінокислоти, при введенні таурину за 14 годин до ін'єкції гістаміну, а не на піку його концентрації в крові. Відомо, що за умов перорального прийому цієї амінокислоти підвищується її концентрація в крові з піками, які спостерігаються через 2; 4,5; і 7 годин [9].

Отримані нами результати складно оцінити у порівнянні з даними інших науковців, оскільки в літературі відсутні відомості про фізіологічну роль таурину в нейрогуморальній регуляції секреторної діяльності шлунка. Невелика кількість першоджерел літератури про зміни деяких секреторних показників не дозволяє скласти цілісного уявлення про його ефекти на секреторні процеси в шлунку. Крім того, описані в літературі дослідження проводились за патологічних умов або на ізольованих клітинах слизової оболонки шлунка. Враховуючи складність співставлення результатів наших досліджень з такими відомостями, можна заключити, що отримані нами дані про посилення таурином секреції соляної кислоти деякою мірою узгоджуються з результатами досліджень авторів, які не

спостерігали зниження таурином підвищеної за патологічних умов кислотності шлунка [10].

Концентрації іонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  як в тканині слизової оболонки шлунка, так і в секреті залоз, є важливими показниками у функціонуванні секреторних клітин шлункових залоз. Тому важливо було дослідити, чи змінює таурин концентрації іонів  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  у шлунковому соці, стимульованому гістаміном, в наших експериментах. Результати наших досліджень показали, що під впливом таурину, введеного внутрішньошлунково за 15 хвилин до застосування гістаміну, концентрація іонів  $\text{Na}^+$  була більшою, ніж у контролі, майже впродовж усієї спроби, за виключенням 61-75-ої хвилини, коли практично не відрізнялась від контрольної (рис.1). Концентрація іонів  $\text{Na}^+$  в шлунковому соці під дією таурину статистично достовірно підвищувалась у першому п'ятнадцятихвилинному проміжку на 61,4% ( $p < 0,01$ ), а у другому – на 55,5% ( $p < 0,05$ ).

Концентрація іонів  $\text{K}^+$  під впливом таурину вже через 15 хвилин після введення в шлунок, починаючи з першої проби після введення гістаміну, вірогідно зменшувалась впродовж першої години спостереження ( $p < 0,001$ ): на 1-15 хвилині після введення гістаміну – на 28%, на 16-30 хвилині – на 38,1%, на 31-45 хвилині – на 41,7% і на 46-60 хвилині – на 36,8% (рис. 1). На 61-75 хвилині різниця концентрацій іонів  $\text{K}^+$  між контролем і дослідом зменшувалась і становила 19,8%, проте ці зміни були статистично не вірогідними ( $p > 0,05$ ).

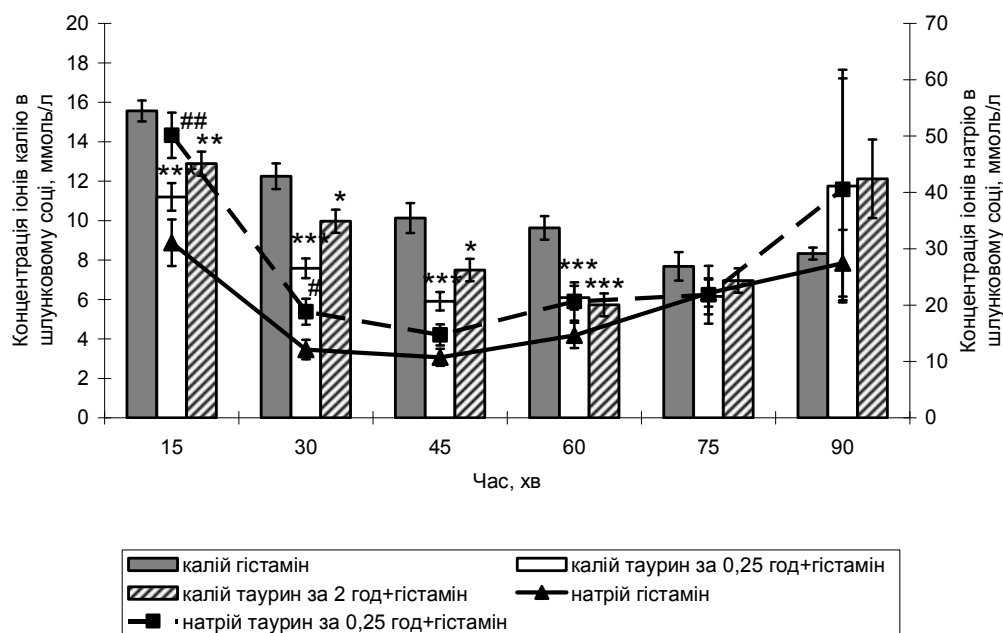


Рис.1. Вплив таурину (1,4 мг/кг) на концентрацію іонів натрію і калію в шлунковому соці, стимульованому гістаміном (0,05 мг/кг), у собак ( $M \pm m$ ;  $n=64$ )

Після введення таурину за 2 години до ін'єкції стимулятора також спостерігались зміни іонного складу шлункового соку. В перші п'ятнадцять хвилин

після введення гістаміну на фоні дії таурину концентрація іонів  $\text{Na}^+$  була меншою щодо контролю на 50,4% ( $p < 0,01$ ). Така тенденція зберігалась впродовж першої години досліджу. На 61-75 хвилині концентрація іонів  $\text{Na}^+$  майже дорівнювала контрольній, а на 76-90 хвилині дещо перевищувала відповідне значення у контрольних дослідках. Проте такі зміни цього показника не були статистично значущими ( $p > 0,05$ ).

Концентрація іонів  $\text{K}^+$  в шлунковому соці цих дослідів була меншою від контролю з початку досліджу і до 75-ої хвилини (рис.1). На 1-15 хвилині вона зменшувалась на 17,2% ( $p < 0,01$ ), на 16-30 хвилині – на 18,6% ( $p < 0,05$ ), на 31-45 хвилині – на 26,1% ( $p < 0,05$ ), на 46-60 хвилині – на 40,5% ( $p < 0,001$ ), на 61-75 хвилині – на 9,4% ( $p > 0,05$ ) щодо контролю. На 76-90 хвилині спостереження концентрація іонів  $\text{K}^+$  в шлунковому соці зростала і дещо перевищувала контрольний показник.

Під час дослідження тривалого впливу таурину на шлункову секрецію спостерігались такі тенденції змін міліграмвідсоткового вмісту іонів натрію і калію в шлунковому соці. Концентрація іонів  $\text{Na}^+$  в шлунковому соці на гістамін під дією таурину, введеного за 14 годин до застосування стимулятора, була меншою щодо контролю на початку і наприкінці досліджу, а на піку секреції перевищувала контрольні значення. Так, в другій, третій, четвертій і п'ятій п'ятнадцятихвилинних пробах концентрація іонів  $\text{Na}^+$  була більшою відповідно на 17,9%, 25,3%, 11,3% і 12,9% за контрольні дані, а в першій і шостій пробах – меншою відповідно на 16,8% і 6,6% за контрольні значення. Концентрація іонів  $\text{K}^+$  в шлунковому соці була меншою щодо контролю впродовж перших 60-ти хвилин спостереження. В наступні 30 хвилин концентрація іонів  $\text{K}^+$  в шлунковому соці збільшувалась і перевищувала контрольні значення в п'ятій пробі на 14,2% і в шостій – на 18,5%. Проте ці зміни не були вірогідними ( $p > 0,05$ ).

Таким чином, отримані нами результати показали, що під впливом таурину (1,4 мг/кг) концентрація іонів натрію в шлунковому соці вірогідно підвищувалась на 1-30 хвилинах досліджу при застосуванні амінокислоти за 15 хвилин до введення гістаміну, а концентрація іонів калію статистично достовірно зменшувалась впродовж перших 60-ти хвилин досліджу при введенні таурину як за 15 хвилин, так і за 2 години до застосування стимулятора (рис.1). В літературі відсутні повідомлення про вимірювання концентрації іонів натрію і калію в шлунковому соці за експериментальних умов, що утруднює порівняльний аналіз, оцінку і узагальнення існуючих в літературі даних і результатів наших досліджень. Проте, дані джерел літератури свідчать, що таурин впливає на іонний обмін в міоцитах, нейронах та інших клітинах, тому ми дослідили вплив таурину на концентрацію іонів натрію і калію в шлунковому соці. На основі аналізу отриманих нами результатів і відомостей літератури ми можемо припустити, що збільшення концентрації іонів натрію в шлунковому соці пов'язано з високою концентрацією цих іонів в секреторних клітинах і вимиванням їх зі шлунковим соком. На користь цього припущення свідчить динаміка змін концентрації іонів натрію. Так, статистично достовірним і найбільш вираженим зростанням рівня цих іонів у шлунковому соці було в перших пробах досліджу. Збільшення концентрації іонів натрію в шлунковому соці під впливом таурину є характерним для посилення

процесів осмотичної фільтрації води і інтенсивності шлункової секреції. Ці результати свідчать, що таурин посилює дифузійно-фільтраційні процеси в шлункових залозах. Зменшення концентрації іонів калію в шлунковому соці ми пов'язуємо зі збереженням або ж збільшенням їх рівня в секреторних клітинах, що описано деякими авторами як здатність таурину запобігати втраті калію клітинами [11], і є важливим для активації  $H^+K^+$ -АТФази парієтальних клітин і посилення секреції соляної кислоти. Слід зазначити, що зменшення концентрації іонів калію в шлунковому соці в наших експериментах було найбільш вираженим в дослідях із введенням таурину за 15 хвилин до застосування гістаміну.

За даними джерел літератури іони калію відіграють важливу роль у регуляції секреції соляної кислоти в шлунку [12]. Відомо, що ці іони безпосередньо задіяні у трансмембранному перенесенні іонів  $H^+$  і функціонуванні протонної помпи, а також у підтриманні трансмембранних іонних градієнтів та електричного потенціалу слизової оболонки шлунка, в оптимальному перебігу клітинних метаболічних реакцій. Іони калію є необхідними для активації  $H^+K^+$ -АТФази, що призводить до секреції соляної кислоти парієтальними клітинами [13]. Інші дослідники вказують на важливість співвідношення концентрації іонів натрію і калію для активації протонної помпи [14]. Хоча робота кислотопродукуючого механізму зберігається як за умов високої, так і низької концентрації іонів  $Na^+$  в середовищі ізольованих парієтальних клітин, проте потреба збереження певного рівня цих іонів зумовлена необхідністю підтримання критичного рівня тканинного  $K^+$ , при якому зберігається продукція HCl. За даними літератури, проникаючи всередину клітини, таурин здатний впливати на енергетичний і іонний обмін, метаболічні процеси [15]. Відомо, що таурин стимулює надходження до тканин іонів кальцію і запобігає втраті іонів калію, що є важливим для роботи  $H^+K^+$ -АТФази і секреції соляної кислоти [16–18].

Аналізуючи отримані нами результати необхідно зауважити, що найбільші зміни концентрації як іонів натрію, так і іонів калію в шлунковому соці спостерігались практично відразу після внутрішньошлункового введення таурину. Отже, має місце прямий вплив амінокислоти на мембрани клітин слизової оболонки шлунка. На користь цього припущення свідчить вірогідне посилення таурином рівня гістамінової шлункової секреції, а також збільшення вмісту вільної соляної кислоти та пепсину в шлунковому соці в наших експериментах. Отже, таурин впливає як на секреторні процеси в шлунку, так і на їх забезпечення на рівні метаболізму секреторних клітин. На сьогоднішній день показана участь таурину в перебігу метаболічних процесів в організмі ссавців [19]. Крім того, можна припустити, що зменшуючи потік  $Na^+$  і  $K^+$  через базальну мембрану, таурин бере участь у підтриманні трансепітеліального потенціалу і збільшенні електричного опору слизової оболонки шлунка. Це може бути одним із механізмів захисту слизової оболонки шлунка таурином при патологічних станах, які супроводжуються підвищенням кислотності шлункового вмісту і ураженнями слизової оболонки, що є важливою проблемою в гастроентерології. Результати експериментальних досліджень багатьох авторів свідчать про протекторні властивості цієї амінокислоти при токсичних пошкодженнях шлунка [10]. В літературі є дані про те, що таурин



може впливати на провідність іонних каналів, що лежить в основі пригнічуючого або збуджуючого впливу всякого подразника на клітину. Описано зменшення провідності іонів калію таурином, яке опосередковане підтипом калієвих каналів, що блокуються АТФ [20]. Відомо, що агоністи  $H_3$ -гістамінових рецепторів, антагоністи гастринових ( $ССК_2$ ) рецепторів,  $K^+$ -конкурентні блокатори секреції соляної кислоти та ще деякі фармакологічні засоби здатні пригнічувати секрецію кислого шлункового соку, запобігаючи злиттю тубуловезикулярних елементів, які містять  $H^+$ - $K^+$ -АТФазу, з мембраною парієтальної клітини або блокуючи канали, що регулюють цикл  $K^+$  в парієтальній клітині [21, 22]. Встановлено, що на базолатеральній поверхні парієтальних клітин, шийних слизових та антральних базальних клітин локалізований  $Na$ - $K$ - $2Cl$  котранспортер-1, який сприяє секреції  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ , рідини та пепсиногену слизовою оболонкою шлунка через процеси електрогенного характеру незалежно від секреції соляної кислоти [23]. Встановлена залежність секреції пепсиногену від  $Na$ - $K$ - $2Cl$  котранспортеру-1. Автори дослідження роблять висновок, що некислий потік з парієтальних клітин сприяє змиванню проензимів з просвіту шлункових залоз [24]. Можливо, в наших дослідах таурин впливає на перебіг цих процесів в секреторних клітинах залоз шлунка.

При пероральному застосуванні таурину за 2 години до введення гістаміну зміни концентрації іонів натрію в шлунковому соці в наших дослідах були статистично не достовірними, проте зміни концентрації іонів калію за своїм характером були аналогічними таким при введенні таурину в шлунок за 15 хвилин до застосування гістаміну, але менш вираженими. З перебігом часу пряма дія таурину на секреторні клітини зменшувалась. При введенні таурину за 14 годин до ін'єкції стимулятора не спостерігалось статистично значущих змін концентрації цих іонів в шлунковому соці. Ці результати свідчать, що реалізація дії таурину на шлункову секрецію через 2 години і 14 годин після його застосування здійснювалась за участю інших механізмів. Опосередкований вплив досліджуваної амінокислоти на шлункову секрецію може здійснюватись через центральну нервову систему та парасимпатичний і симпатичний відділи автономної нервової системи, на що вказують результати наших попередніх досліджень. В літературі є дані про існування метаботропних тауринових рецепторів, зв'язаних з сигнальними шляхами, опосередкованими фосфоліпазою  $C$ , негативним зворотнім зв'язком через гальмівні  $G$ -білки [25–27]. Крім того, в центральній нервовій системі таурин може зв'язуватись з GABA-рецепторами першого типу [28, 29] та гліциновими рецепторами [30], причому активація останніх викликає такі ж самі конформаційні зміни в  $M_2$ - $M_3$  домені, як і при зв'язуванні зі специфічним агоністом, з різницею на користь гліцину в часі стабілізації такої активованої конфігурації [31, 32]. Відомо, що таурин і гліцин деполаризують нейрони ядер лімбічної системи та модулюють їх збудливість [33]. Такі ефекти амінокислот в цих нейронах опосередковані виходом іонів хлору з клітин. Гліцин і таурин, як екзогенні агоністи гліцинових рецепторів, запобігають закриванню відповідних іонних каналів на постсинаптичній мембрані [34].

Таким чином, механізми регуляції шлункової секреції таурином через проміжки часу різної тривалості після його застосування відрізняються. Збільшення концентрації  $Na^+$  і зменшення концентрації  $K^+$  в секреті, які супроводжували зміни

рівня гістамінової шлункової секреції і біохімічного складу шлункового соку через 15 хвилин після внутрішньошлункового введення таурину, свідчать про прямий вплив цієї амінокислоти на секреторні клітини шлункових залоз. Статистично вірогідні зміни концентрації  $K^+$  в секреті при введенні таурину за 2 години до ін'єкції гістаміну вказують на те, що за цих умов зберігалась пряма дія амінокислоти на секреторні клітини. Проте, зміни концентрації  $K^+$ , а також  $Na^+$  в цих дослідах були виражені меншою мірою, а шлункова секреція посилювалась більше, ніж у попередній серії експериментів, що свідчить про залучення інших механізмів регуляції секреторного процесу. Аналогічне заключення можна зробити і при аналізі змін секреції та іонного складу шлункового соку при застосуванні таурину за 14 годин до введення гістаміну. Результати наших досліджень із застосуванням гангліо-, холіно- та адреноблокаторів свідчать про залучення центральних і периферичних механізмів регуляції шлункової секреції нервовою системою до реалізації ефектів таурину на секреторну функцію шлунка [35].

### ВИСНОВОК

Вплив таурину на концентрацію іонів натрію і калію в шлунковому соці залежить від тривалості проміжку часу між застосуванням амінокислоти і стимулятора секреції. Збільшення концентрації іонів натрію в шлунковому соці спостерігається при введенні таурину за 15 хвилин до застосування гістаміну, а зменшення концентрації іонів калію відбувається впродовж перших 60-ти хвилин досліду при введенні таурину як за 15 хвилин, так і за 2 години до ін'єкції стимулятора. Ці зміни відбуваються за рахунок прямого впливу таурину на клітини секреторних залоз і пов'язані з посиленням ним дифузійно-фільтраційних та біосинтетичних процесів в секреторних клітинах слизової оболонки шлунка.

### Список літератури

1. Guizouarn H. Cell volume regulation: the role of taurine loss in maintaining membrane potential and cell pH / Guizouarn H., Motais R., Garcia-Romeu F. [et al.] // Journ. of Physiol. – 2000. – V. 523, № 1. – P. 147-154.
2. Li F. Taurine replacement attenuates hyperalgesia and abnormal calcium signaling in sensory neurons of STZ-D rats / Li F., Obrosova I.G., Abatan O. [et al.] // AJP: Endocrinol. Metab. - 2005. - V. 288. - P. E29-E36.
3. Noulin J.F. Two types of K channels at the basolateral membrane of proximal tubule: inhibitory effect of taurine / Noulin J.F., Brochiero E., Lapointe J.Y., Laprade R. // AJP: Renal. Physiol. - 1999. - V. 277, № 2. - P. F290-F297.
4. Потешных Е. Механизм заболевания: регуляция клеточного объема в норме и при патологии // Русский медицинский журнал. – 1997. – Т. 5, № 1. – С. 17-18.
5. Yu S.S. Taurine-induced modulation of voltage-sensitive  $Na^+$  channels in rat dorsal root ganglion neurons / Yu S.S., Yu K., Gu Y., Ruan D.Y. // Brain Res. Bull. – 2005. – V. 66, № 3. – P. 259-267.
6. Busque S.M. L-type amino acids stimulate gastric acid secretion by activation of the calcium-sensing receptor in parietal cells / Busque S.M., Kerstetter J.E., Geibel J.P. [et al.] // AJP: Gastrointest. Liver Physiol. - 2005. - V. 289, № 4. - P. G664-G669.
7. Perez-Zoghbi J.F. Heterogeneity of acid secretion induced by carbachol and histamine along the gastric gland axis and its relationship to  $[Ca^{2+}]_i$  / Perez-Zoghbi J.F., Mayora A., Ruiz M.C. [et al.] // AJP: Gastrointest. Liver Physiol. - 2008. - V. 295. - P. G671-G681.

8. Крешков А.П. Основы аналитической химии 3 / Крешков А.П. - Москва: изд-во «Химия». - 1977. - С. 245-253.
9. Елизарова Е.П. Фармакокинетика таурина / Елизарова Е.П., Ходжакулиев Б.Г., Заволовская Л.И., Черногубова Е.В. // Кардиология. - 1995. - Т. 34, № 4.-С. 69-70.
10. Motawi T.K. Modulation of indomethacin-induced gastric injury by spermine and taurine in rats / Motawi T.K., Abd Elgawad H.M., Shahin N.N. // J. Biochem. Molecular Toxicology. – 2007. – V. 21, № 5. – P. 280-288.
11. Карабанов А.М. Аминокислоты в сапропеле озера дикого / Карабанов А.М., Йода В.М., Мазур Н.В. // Здоровоохранение Беларуси. - 1996. - № 12. - С. 19-20.
12. Fujita A. Specific localization of an inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel, Kir4.1, at the apical membrane of rat gastric parietal cells; its possible involvement in K<sup>+</sup> recycling for the H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-pump / Fujita A., Horio Y., Higashi K. [et al.] // J. Physiol. – 2002. – V. 540, № 1. – P. 85-92.
13. Geibel J.P. Role of potassium in acid secretion / Geibel J.P. // World J. Gastroenterol. – 2005. – V. 11, № 34. – P. 5259-5265.
14. Akagi K. Gastric acid secretion is augmented by the replacement of extracellular Na<sup>+</sup> with K<sup>+</sup> or other ions / Akagi K., Hasebe K., Watanabe K., Nagao T., Urushidani T. // Jpn. J. Pharmacol. – 1998. - V. 78. – P. 147-159.
15. Han J. Taurine increases glucose sensitivity of UCP2-overexpressing  $\beta$ -cells by ameliorating mitochondrial metabolism / Han J., Bae J.H., Kim S.-Y. [et al.] // AJP: Endocrinol. Metab. - 2004. - V. 287. - P. E1008-E1018.
16. Schaffer S.W. Physiological roles of taurine in heart and muscle / Schaffer S.W., Jong C.J., Ramila K.C. [et al.] // Journ. of biomedical science. – 2010. – V. 17, № 1. – P. S2.
17. Zhang X. Antagonism for different doses of taurine on calcium overload in myocardial cells of diastole heart failure rat model / Zhang X., Qu Y., Zhang T., Zhang Q. // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2009. – V. 34, № 3. – P. 328-331.
18. Xu Y.J. The potential health benefits of taurine in cardiovascular disease / Xu Y.J., Arneja A.S., Tappia P.S., Dhalla N.S. // Exp. Clin. Cardiol. – 2008. – V. 13, № 2. – P. 57-65.
19. Ishikawa M. Taurine's health influence on Japanese high school girls / Ishikawa M., Arai S., Takano M. [et al.] // Journ. of biomedical science. – 2010. – V. 17, № 1. – P. S47.
20. Noulin J.F. Two types of K channels at the basolateral membrane of proximal tubule: inhibitory effect of taurine / Noulin J.F., Brochiero E., Lapointe J.Y., Laprade R. // AJP: Renal. Physiol. - 1999. - V. 277, № 2. - P. F290-F297.
21. Parsons M.E. Novel approaches to the pharmacological blockade of gastric acid secretion / Parsons M.E., Keeling D.J. // Experiment. Opin. Investig. Drugs. - 2005. - V. 14, № 4. - P. 411-421.
22. Shin J.M. The gastric HK-ATPase: structure, function, and inhibition / Shin J.M., Munson K., Vadin O., Sachs G. // Pflugers. Arch. - 2009. – V. 457, № 3. - P. 609-622.
23. Xue H. Expression of NKCC2 in the rat gastrointestinal tract / Xue H., Liu S., Ji T. [et al.] // Neurogastroenterol. Motil. - 2009. - V. 21, № 10. - P. 1068-1089.
24. McDaniel N. Role of Na-K-2Cl cotransporter-1 in gastric secretion of nonacidic fluid and pepsinogen / McDaniel N., Pace A.J., Spiegel S. [et al.] // AJP: Gastrointest. Liver Physiol. - 2005. - V. 289. - P. G550-G560.
25. Frosini M. A specific taurine recognition site in the rabbit brain is responsible for taurine effects on thermoregulation / Frosini M., Sesti C., Saponara S. [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2003. – V. 139. – P. 487-494.
26. Wu J.Y. Taurine receptor: kinetic analysis and pharmacological studies / Wu J.Y., Tang X.W., Tsai W.H. // Adv. Exp. Med. Biol. – 1992. – V. 315. – P. 263-268.
27. Wu J.Y. Role of taurine in the central nervous system / Wu J.Y., Prentice H. // Journ. of biomedical science. – 2010. – V. 17, № 1. – P. S1.
28. Ochoa-de la Paz L.D. Modulation of human GABA $\rho$  1 receptors by taurine / Ochoa-de la Paz L.D., Martinez-Davila I.A., Miledi R. [et al.] // Neurosci. Res. - 2008. - V. 61, № 3. - P. 302-308.
29. Martinez-Torres A. A single amino acid change within the ion-channel domain of the gamma-aminobutyric acid rho1 receptor accelerates desensitization and increases taurine agonism // Martinez-Torres A., Miledi R. // Arch. Med. Res. – 2004. – V. 35, № 3. – P. 194-198.

30. Mori M.  $\beta$ -Alanine and taurine as endogenous agonists at glycine receptors in rat hippocampus in vitro / Mori M., Gahwiter B.H., Gerber U. // Journal of Physiology. - 2002. - V. 539, № 1. - P. 191-200.
31. Absalom N.L. Role of charged residues in coupling ligand binding and channel activation in the extracellular domain of the glycine receptor / Absalom N.L., Lewis T.M., Kaplan W. [et al.] // Journ. of Biol. Chem. - 2003. - V. 278, № 50. - P. 50151-50157.
32. Han N.L. Comparison of taurine- and glycine-induced conformational changes in the M2-M3 domain of the glycine receptor / Han N.L., Clements J.D., Lynch J.W. // J. Biol. Chem. - 2004. - V. 279, № 19. - P. 19559-19565.
33. Jiang Z. Taurine Activates Strychnine-Sensitive Glycine Receptors in Neurons Freshly Isolated From Nucleus Accumbens of Young Rats / Jiang Z., Krnjevi K., Wang F. [et al.] // J. Neurophysiol. - 2004. - V. 91. - P. 248-257.
34. Keck T. Frequency-dependent glycinergic inhibition modulates plasticity in hippocampus / Keck T., Lillis K.P., Zhou Y.D. [et al.] // J. Neurosci. - 2008. - V. 28, № 29. - P. 7359-7369.
35. Грінченко О.А. Шляхи впливу таурину на шлункову секрецію / Грінченко О.А., Янчук П.І. // Фізіологічний журнал. - 2010. - Т. 56, № 4. - С. 111-120.

**Грінченко О.А. Влияние таурина на ионный состав желудочного сока при стимуляции секреции гистамином у собак / О.А. Грінченко, В.М. Бабан, П.І. Янчук // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». - 2011. - Т. 24 (63), № 2. - С.107-116**

В условиях хронического эксперимента на беспородных собаках с фистулами желудка исследовали влияние таурина на концентрацию ионов натрия и калия в желудочном соке, стимулированном гистамином. Показано, что таурин в дозе 1,4 мг/кг массы тела увеличивает концентрацию ионов натрия в желудочном соке в начале опыта при введении аминокислоты за 15 минут до инъекции гистамина (0,05 мг/кг) и уменьшает концентрацию ионов калия в течение первых 60-ти минут опыта при введении таурина как за 15 минут, так и за 2 часа до применения стимулятора.

**Ключевые слова:** таурин, желудочная секреция, ионный обмен,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Grinchenko O.A. The influence of taurine on the ion content of gastric juice at the histamine stimulation of secretion in dogs / O.A. Grinchenko, V.M. Baban, P.I. Yanchuk // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. - Series: Biology, chemistry. - 2011. - Vol. 24 (63), No. 2. - P. 107-116.** The influence of taurine on  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  ion concentration in gastric juice stimulated by histamine were investigated in chronic experiments on dogs with gastric fistulae. It was shown that taurine in dose 1,4 mg/kg body weight increased the  $\text{Na}^+$  concentration in gastric juice at the beginning of experiment at the introduced 15 minutes before histamine injection (0,05 mg/kg) and decreased the  $\text{K}^+$  concentration during the first 60 minutes of experiment at the introduced both 15 minutes before and 2 hour before stimulator application.

**Keywords:** taurine, gastric secretion, ion change,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ .

*Поступила в редакцию 21.05.2011 г.*

**УДК 001.891:[577.114-021.632:599.323.4]**

## **ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ВИСОКОВУГЛЕВОДНИХ ДОБАВОК НА СТАН ЩУРІВ З ІНДУКОВАНИМ АЛЛОКСАНОМ ДІАБЕТОМ**

*Данилова А.О., Запорожченко О.В.*

*Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова, Одеса, Україна  
E-mail: olgaivdan@mail.ru*

Вивчено вплив біологічно активних добавок (БАД) на основні фізіологічні і біохімічні показники щурів з індукованим аллоксаном цукровим діабетом. З'ясовано, що всі досліджені БАД зменшують вміст глюкози в сироватці крові щурів з аллоксановим діабетом, причому профілактичне годування тварин препаратами дозволяє зменшити токсичний вплив аллоксану. Найбільш ефективним є препарат з введенням пробіотичних мікроорганізмів, що виявляється як у незначному підвищенні базального рівня глюкози в сироватці крові, так і при проведенні ГТТ.

**Ключові слова:** БАД, аллоксановий діабет, глюкозотолерантний тест (ГТТ).

### **ВСТУП**

В останнє десятиліття зростає інтерес до альтернативних методів лікування й профілактики захворювань. Особливо популярними стали засоби рослинного походження й біологічно активні добавки до їжі (БАД). БАД виготовляються переважно з рослинної сировини, включають до їх складу комплекси вітамінів і/або мінералів, а також інші компоненти (ферменти, харчові волокна (ХВ), водорості, продукти бджільництва, переробки м'ясо-молочної сировини і т.д.). Як правило, виробники рекомендують застосовувати їх у якості загально зміцнювальних, заспокійливих, коригуючих засобів і т.п. [1-3].

Цукровий діабет - захворювання, що в наш час називають "неінфекційною пандемією". На цю хворобу страждає 2,8 % жителів планети, а в 2030 році очікується ріст цього показника до 4,4 % [4-8]. Найпоширенішою моделлю цукрового діабету, пов'язаною з розвитком вільнорадикального окислювання в бета-клітинах підшлункової залози, є аллоксановий діабет [9-13]. Алоксан у відповідних дозах викликає загибель інсулінпродукуючих  $\beta$ -клітин в острівках підшлункової залози *in vivo*, що пов'язується із продукуванням у позаклітинному середовищі й безпосередньо в  $\beta$ -клітинах супероксидних радикалів ( $O_2^-$ ). В острівках  $\beta$ -клітин підшлункової залози аллоксан відновлюється до діалурінової кислоти, і після його автоокислення утворюються  $O_2^-$  і перекис водню (як продукт ферментативного дисмування  $O_2^-$ ) [9].

Метою роботи було дослідження дії високовуглеводних БАД на основні фізіологічні і біохімічні показники щурів з індукованим аллоксаном цукровим діабетом.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Нами вивчалися наступні БАД: буряковий жом (БурЖ) і виділені із нього харчові волокна – ХВБурЖ, а також препарат із введенням пробіотичних мікроорганізмів (лактобактерій), насаджених на ХВБурЖ, які були люб'язно надані співробітниками Одеської національної академії харчових технологій. Тварин в експерименті у кількості 4-х груп утримували на раціоні віварію, БАД додавали у кількості 10 % до раціону.

Алоксановий діабет викликали шляхом внутрішньочеревного введення 5 % розчину алоксангідрату фірми "Хемапол" у кількості 10, 15, 20 мг/ 100 г ваги тварини, що узгоджується із загальноприйнятими методиками індукування діабету.

На протязі всього експерименту контролювали загальний стан тварин, визначали рівень глюкози в крові та проводили глюкозотолерантний тест (ГТТ) за допомогою тест-систем глюкозиметра Bioname Rightest™ GM 300 (Швейцарія).

Вміст цукру в крові при проведенні ГТТ визначали натще, після годування і під навантаженням. Кров відбирали через кожні 15 хв на протязі 2 год після годування або введення усередину у шлунок через зонд глюкози з розрахунку 5 г/кг ваги щура.

Дослід проводили за схемою (див. табл. 1).

**Таблиця 1****Схема проведення дослідів**

Номер групи	Раціон	Номер підгрупи	Доза введеного алоксану, мг/100 г ваги
I	Загальновіварійний (ЗВ)	1	—
		2	10
		3	10 + 15
		4	20
II	ЗВ + БурЖ	1	—
		2	10
		3	10 + 15
		4	20
III	ЗВ + ХВБурЖ	1	—
		2	10
		3	10 + 15
		4	20
IV	ЗВ + ХВБурЖ-лакто	1	—
		2	10
		3	10 + 15
		4	20

Забір крові для біохімічних і морфологічних досліджень проводився із хвостової вени з періодичністю 3–5 днів. При проведенні ГТТ забір крові здійснювали через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 хвилин після прийняття глюкози. У ході експерименту контролювався так само базальний рівень глюкози сироватки крові у всіх груп щурів і рівень глюкози після прийому їжі.

Кожна група тварин отримувала відповідний раціон на протязі 30 днів. Щури 2-ї і 3-ї груп були на профілактичному годуванні БАД на протязі 30 днів до введення алоксану, тварини 4-ї групи почали отримувати БАД відразу після введення алоксану без профілактичного годування.

Експериментальні дані обробляли за допомогою пакету програм Excel 97.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Раціони із введенням БурЖ, ХВБурЖ і ХВБурЖ-лакто не впливають негативно на розвиток тварин. Поводження тварин так само не перетерпіло ніяких змін, негативного впливу на метаболізм мікрофлори кишечника не виявлено.

Зміни ваги щурів всіх груп через 10, 20, 30 днів після початку експерименту представлені на Рисунку 1.

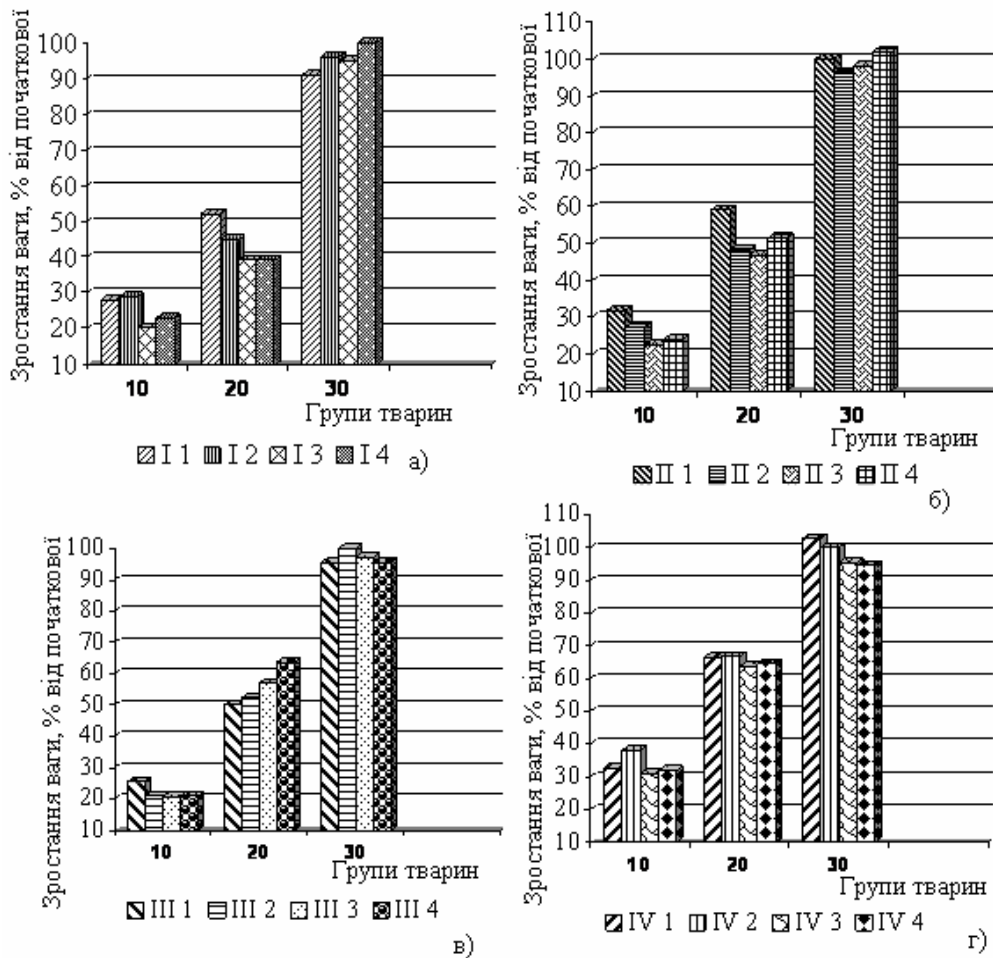


Рис. 1. Динаміка змін ваги експериментальних щурів у відсотках (%) від початкової ваги на протязі 10 днів, 20 днів, 30 днів на раціонах: а) ЗВ, б) БурЖ, в) ХВБурЖ, г) ХВБурЖ-лакто

Як видно з рисунку, динаміка росту тварин не порушувалась, лише в групах І 2, І 3, І 4 з аллоксановим діабетом зростання ваги було більш інтенсивним на фоні появи ожиріння. В групах з аллоксановим діабетом, що отримували БАД, ожиріння було меншим і набір ваги був поступовим, наближеним до фізіологічних норм.

Одним із важливих показників протікання захворювання на цукровий діабет є рівень глюкози в сироватці крові, визначений натще. Показники базального рівня глюкози, представлені на рисунку 2. З наведених даних випливає, що при годуванні тварин БАД рівень глюкози нижче, ніж у групах на ЗВ раціоні з аллоксановим діабетом (І 2, І 3, І 4), найвищі значення у групах з важкою формою діабету, а найнижчі – у групах з діабетом, що отримували БАД з пробіотичними мікроорганізмами (IV).

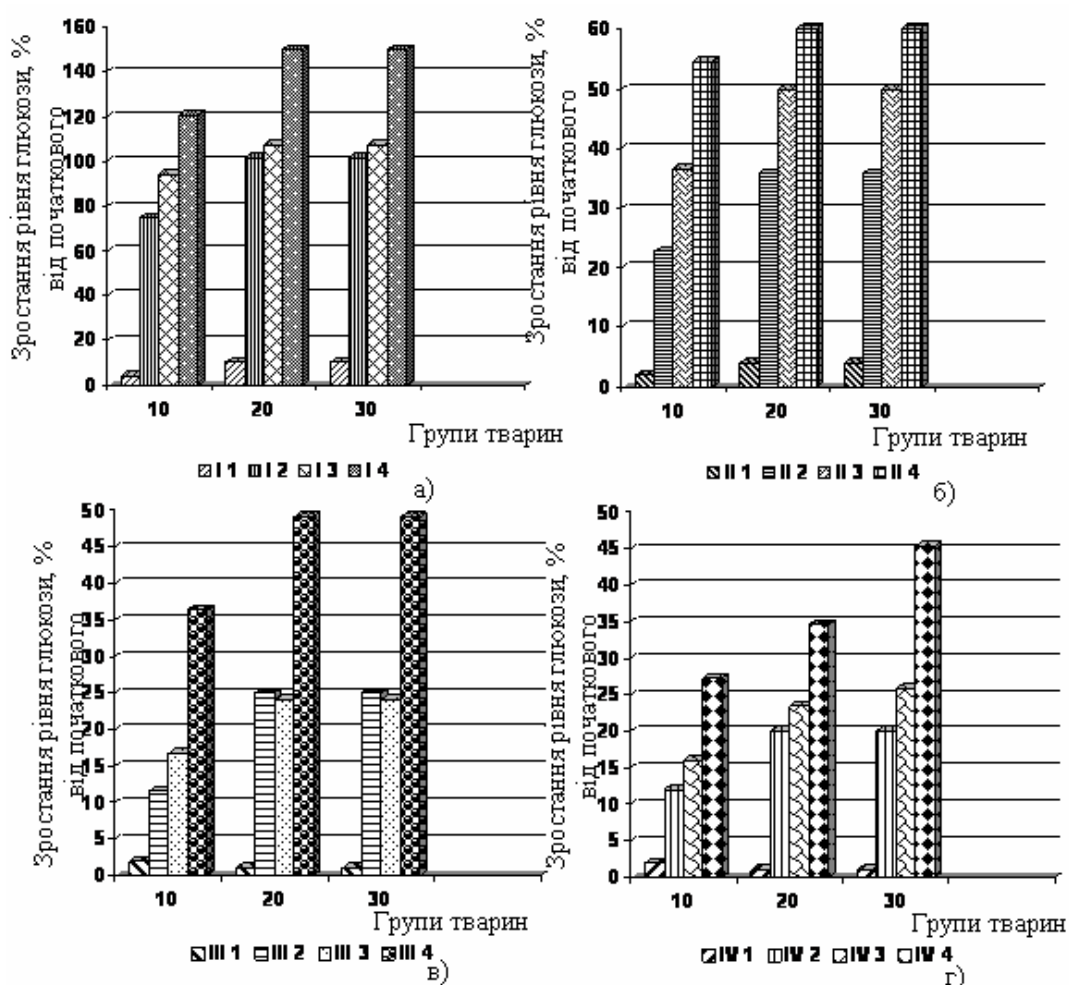


Рис. 2. Зміни базального рівня глюкози в сироватці крові щурів у відсотках (%) від початкової ваги на протязі 10, 20, 30 днів на раціонах:  
а) ЗВ, б) БурЖ, в) ХВБурЖ, г) ХВБурЖ-лакто



Необхідно відзначити, що в групах II 2, II 3, III 2, III 3, IV 2, IV 3, де була проведена профілактична годівля препаратами, токсична дія аллоксану виявилася значно менше. Так, в групах II 2, III 2, IV 2 без навантаження (введення 5 % розчину глюкози при проведенні ГТТ) рівень глюкози у сироватці крові був в межах норми при діабеті у початковій формі.

У нормі рівень глюкози в сироватці крові коливається в межах 5,5-6,6 ммоль/л. У щурів з важкою формою аллоксанового діабету базальний рівень глюкози в сироватці крові підвищувався в 3,5-4,5 рази в порівнянні із тваринами контрольної групи, у яких не було діабету (рис. 2). У тварин на раціоні із ХВБурЖ базальний рівень глюкози в сироватці крові був значно нижче, ніж рівень у групах щурів на раціонах із введенням БурЖ, однак, є відомості (S.Bonner-Weig [9]), що помірна гіперглікемія є одним з основних стимулів до підвищення функціональної активності й розмноженню  $\beta$ -клітин острівців Лангерганса.

Зниження рівня післяхарчової глікемії при вживання ХВБурЖ можна пояснити підвищенням толерантності до вуглеводів у зв'язку із властивістю ХВ сповільнювати усмоктування зі шлунково-кишкового тракту, що веде до більше рівномірного навантаження на інсулярний апарат протягом усього процесу травлення.

Тест на толерантність глюкозі, наведений на рисунку 3, підтвердив наявність захисної дії добавок при аллоксановій інтоксикації - всі види добавок знижували гіперглікемію в експериментальних тварин. Приклад наведений для груп тварин через 30 днів після початку дослідів. З наведених даних видно, що явною є залежність рівня глюкози від виду добавки: значення гіперглікемії в групах щурів, що одержували ХВБурЖ з лактобактеріями були нижче, ніж у групах на ХВБурЖ і БурЖ. На рисунку (рис.3,а,б).

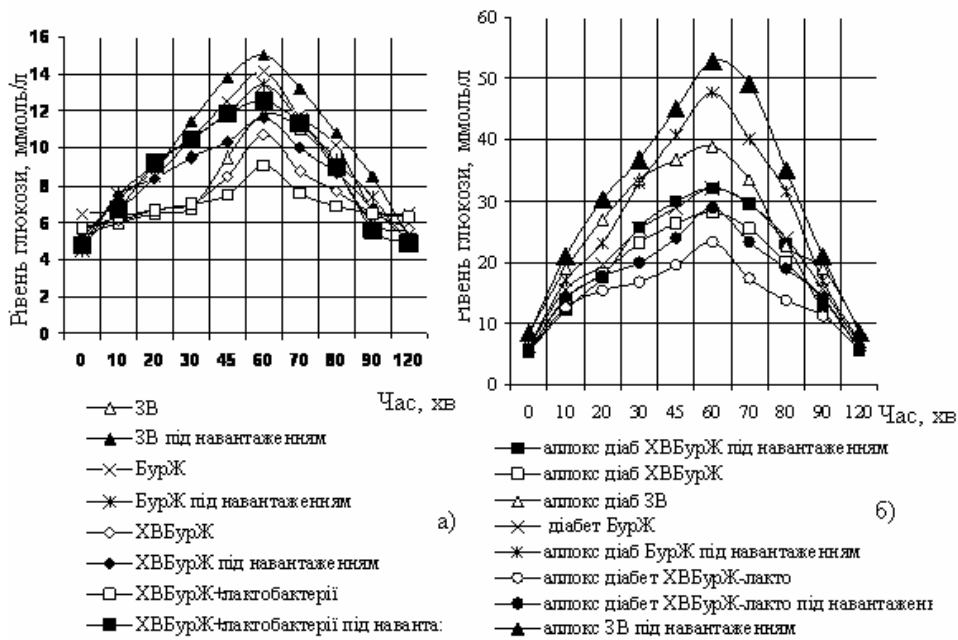


Рис. 3. ГТТ у експериментальних тварин: а) у нормі б) важка форма діабету.

При годуванні БурЖ вміст глюкози в сироватці крові щурів з аллоксановим діабетом був майже такий, як і в контрольній групі на ЗВ, оскільки препарат містить значну кількість вільних цукрів, дисахаридів (до 30 %), утилізація яких потребує значної кількості інсуліну, а його продукування пошкодженими аллоксаном клітинами відбувається повільно.

Базальний рівень цукру в крові тварин контрольної групи І 4, непохитно тримався аж до закінчення експерименту на високому рівні ( $22,5 \pm 0,8$  ммоль/л), чого не можна сказати про тварин, у раціон яких вводили БАД. Так, у групах тварин, що одержували в складі раціону ХВБурЖ базальний рівень цукру в крові був від  $7,5 \pm 0,7$  при легкій формі діабету до  $9,5 \pm 0,8$  ммоль/л при важкій формі діабету й у групах на БурЖ від  $10,6 \pm 0,6$  ммоль/л, до  $16 \pm 0,8$  ммоль/л, проте ці значення значно нижче, ніж у групі тварин на ЗВ раціоні. Ще нижчими були значення в групах, які отримували ХВБурЖ-лакто - базальний рівень цукру в крові був від  $6,3 \pm 0,5$  ммоль/л при легкій формі діабету до  $7,6 \pm 0,6$  ммоль/л при важкій формі діабету. Навіть в групі ІV 4 базальний рівень цукру не перевищував  $12,5 \pm 0,5$  ммоль/л. Для порівняння - у контрольній групі тварин на ЗВ раціоні (І 3) він був  $16,7 \pm 0,8$  ммоль/л.

Отримані результати свідчать про те, що при проведенні ГТТ у щурів на раціонах з БАД рівень глюкози збільшується у порівнянні із базовим на 40-45 %. У щурів з аллоксановим діабетом на ЗВ раціоні відбувається збільшення на 75-80 % і вміст глюкози коливається від  $16,3 \pm 0,5$  ммоль/л при слабкій формі діабету до  $28,6 \pm 0,8$  ммоль/л при важкій формі. Необхідно відмітити, що найбільшу антидіабетичну здатність мають препарати із пробіотичними мікроорганізмами.

Таким чином, такі види добавок як ХВБурЖ, ХВБурЖ-лакто можуть зменшувати постпрандіальну глікемічну реакцію у випадку порушення балансу обмінних процесів в організмі.

### ВИСНОВКИ

1. Вивчені БАД зменшують вміст глюкози в сироватці крові щурів з аллоксановим діабетом, причому профілактичне годування щурів препаратами дозволяє зменшити токсичний вплив аллоксану.
2. При моделі важкої форми діабету найбільш ефективним є препарат з введенням пробіотичних мікроорганізмів, що виявляється як у незначному підвищенні базального рівня глюкози в сироватці крові, так і при проведенні ГТТ.
3. На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що всі вивчені БАД можна використовувати при лікуванні й профілактиці цукрового діабету, у складі продуктів спеціального призначення для корекції вуглеводного обміну.

### Список літератури

1. Капрельянц Л.В. / Функціональні продукти /Л.В. Капрельянц, К.Г. Юргачова – О.: Друк, 2003. – 333 с.
2. Биологически активные пищевые добавки к пище [Електронний ресурс] // <http://www.bio-lavka.kiev.ua/litbadbad.shtml>
3. Mark-Herbert C. / Development and marketing strategies for functional foods / C. Mark-Herbert // Agbioforum . – 2003. – Vol. 6. – P. 75–78.

4. Балаболкин М.И. / Диагностика и классификация сахарного диабета / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская // Журнал Сахарный диабет. - 1999. - № 3. [Электронный ресурс] <http://www.diabet.ru/Sdiabet/1999-03/3.htm>
5. Колесникова Е.В. Эндокринные заболевания и патология органов пищеварения / Е.В. Колесникова // Журнал "Мистецтво Лікування". Украина. – 2006. – 8(34) [Электронный ресурс] <http://www.gastroscan.ru/literature/authors/2025>
6. Кураева Т.Д. / Медико-генетическое консультирование и прогнозирование развития инсулинзависимого сахарного диабета / Т.Д. Кураева, О.В. Ремизов, И.И. Дедов // Пробл. эндокринологии. - 1996. - Т.42, №6. - С. 3-8.
7. Аметов А.С. / Факторы риска сахарного диабета. Роль ожирения А.С. Аметов // Русский медицинский журнал, 2006 [Электронный ресурс] / [www.rmj.ru/articles\\_857.htm](http://www.rmj.ru/articles_857.htm)
8. Фармакологические модели [Электронный ресурс] [http://www.ipharm.sp.ru/farm%20m\\_gipoglikimiy.htm](http://www.ipharm.sp.ru/farm%20m_gipoglikimiy.htm)
9. Bonner-Weir S. / Perspective: Postnatal pancreatic  $\beta$  cell growth / S. Bonner-Weir // Endocrinology. - 2000. - Vol. 141. - № 6. - P. 1926-1929
10. Варданян А.Р. Влияние аллоксана на физико-химические свойства металлопротеинов крови in vitro [Электронный ресурс] // [http://elibrary.science.am/2003\\_1/10/10r.htm](http://elibrary.science.am/2003_1/10/10r.htm)
11. Мохаммад Саид Сахибжани Изменение биологических свойств митохондрий печени в развитии аллоксанового диабета и их коррекция: автореф. дисс. к.м.н. / Мохаммад Саид Сахибжани // 2-й Ташкентский гос. мед. ин-т - 1991. - 16 с.
12. Обухова Л.А. / Влияние длительного приема пробиотика на морфофункциональное состояние эндокринной части поджелудочной железы у экспериментальных животных с аллоксановым диабетом / Л.А. Обухова Ю.Г. Дружинина, Н.А. Пальчиков [и др.] // Бюлл. СО РАМН. - 2006. - № 2 (120). - С. 171-175.
13. West I.C. Radicals and Oxidative Stress in Diabetes/ I.C. West // British Diabetic Association. Diabetic Medicine. - 2000. № 17. - P. 171-180.

**Данилова А.О. Изучение влияния высокоуглеводных добавок на состояние крыс с индуцированным аллоксаном диабетом / А.О. Данилова, А.В. Запорожченко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С.117-123**

Изучено влияние биологически активных добавок (БАД) на основные физиологические и биохимические показатели крыс с индуцированным аллоксаном сахарным диабетом. Выяснено, что все исследованные добавки уменьшают содержание глюкозы в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом, причем профилактическое кормление животных БАД позволяет уменьшить токсичное влияние аллоксана. Наиболее эффективной оказалась БАД с введением пробиотических микроорганизмов, что проявилось как в незначительном повышении базального уровня глюкозы в сыворотке крови, так и при проведении ГТТ.

**Ключевые слова:** БАД, аллоксановый диабет, глюкозотолерантный тест (ГТТ).

**Danilova A.O. Study of influence of high-carbohydrate additions on the state of rats which was induced by an alloxan / A.O. Danilova, A.V. Zaporozhenko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 117-123.**

Influence of bioactive additions (BAA) is studied on the basic physiological and biochemical indexes of rats with a diabetes mellitus which was induced by an alloxan. It is found out that all investigational additions diminish maintenance of glucose in the serum of blood of rats with alloxan diabetes, thus the prophylactic feeding of animals by BAA allows to decrease toxic influence of alloxan. The most effective was a BAA with introduction of probiotic microorganisms, that showed up both in the insignificant increase of basale level of glucose in the serum of blood and during realization of glucose-tolerant test.

**Keywords:** bioactive additions (BAA), diabetes was induced by an alloxan, glucose-tolerant test.

*Поступила в редакцию 13.06.2011 г.*

**УДК 517.121:963**

## **ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА**

*Ёлкина Н.М.<sup>2</sup>, Коношенко С.В.<sup>1</sup>, Шашуа Илиас<sup>1</sup>, Жугина О.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*Крымский факультет Запорожского национального университета, Симферополь, Украина*  
*E-mail: konoshenko@crimea.edu*

Показано, что при ишемической болезни сердца, в условиях развития окислительного стресса в эритроцитах возрастает активность ферментов, катализирующих «пусковые» реакции гликолиза и пентозофосфатного пути утилизации глюкозы (гексокиназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), а также активность глутатионредуктазы. Отмеченные изменения в активности отдельных эритроцитарных ферментов могут иметь компенсаторное значение.

**Ключевые слова:** эритроциты, гексокиназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, ишемическая болезнь сердца, окислительный стресс.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Выяснение молекулярных основ различных заболеваний и патологических состояний организма человека является одной из проблем современной медицины и биологии [1–3]. Известно, что при многих заболеваниях нарушается прооксидантно-антиоксидантное равновесие, что ведет к интенсификации свободно-радикальных реакций, усиленному генерированию активных форм кислорода (АФК) и их влиянию на клеточные структуры [4, 5].

Однако, несмотря на большое количество работ, выполненных в этом аспекте, до сих пор остаются не решенными вопросы, касающиеся характера повреждающего действия АФК на разные по уровню организации клетки и молекулярные системы, в том числе ферментные, а также выяснение возможности развития в условиях окислительного стресса компенсаторных реакций, направленных на поддержание клеточного гомеостаза.

В связи с этим, целью настоящей работы было изучение активности отдельных ферментов в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца в условиях развития окислительного стресса.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом для исследований служили эритроциты больных ишемической болезнью сердца (25 человек) в возрасте от 45 до 55 лет и 25 практически здоровых людей (контрольная группа).

Гемолиз эритроцитов осуществляли по методу Драбкина [6]. Содержание ТБК-активных продуктов (вторичные продукты пероксидации липидов) в гемолизатах определяли по интенсивности поглощения при 532 нм [7] и выражали в усл. ед. мг<sup>-1</sup> липидов. Общие липиды определяли по методу [8]. Активность гексокиназы определяли спектрофотометрическим методом, используя индикатор крезоловый красный [9]. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы определяли спектрофотометрическим методом, основанным на образовании восстановленной формы НАДФ [10].

Активность глутатионредуктазы определяли спектрофотометрически, оценивая образование окисленной формы НАДФ [10]. Полученные данные обрабатывали статистически, используя t-критерий Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По имеющимся в литературе данным ишемическая болезнь сердца относится к заболеваниям с развивающимся окислительным стрессом [4]. Это подтверждается так же данными наших исследований. Так, было показано, что в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца усиливаются реакции пероксидации липидов, о чем свидетельствует достоверное увеличение содержания в гемолизатах ТБК-активных продуктов ПОЛ: в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ТБК-активных продуктов пероксидации липидов в гемолизатах эритроцитов больных ишемической болезнью сердца ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )

Показатель	Обследованные группы	
	Контрольная группа	Больные ишемической болезнью сердца
ТБК-активные продукты ПОЛ, усл. ед. мг <sup>-1</sup> липидов	0,020 ± 0,002*	0,036 ± 0,004*

\* – достоверность различия по сравнению с контрольной группой (p < 0,05).

На фоне интенсификации процессов ПОЛ наблюдалось изменение активности отдельных эритроцитарных ферментов: гексокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы (табл. 2). Активность гексокиназы, катализирующей первую "пусковую" реакцию гликолиза, в эритроцитах больных была, в среднем, в 2 раза выше по сравнению с контрольной группой доноров, что может свидетельствовать об активизации гликолитического пути утилизации глюкозы в эритроцитах в условиях данной патологии. Из литературы известно [11], что гликолиз обеспечивает эритроциты энергией, а также восстановительными эквивалентами в форме НАДН и, что имеет немаловажное значение, побочным

продуктом – 2,3-дифосфоглицератом, важным регуляторным фактором кислородо-транспортной функции гемоглобина.

Вместе с этим, показана более высокая активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, катализирующей "пусковую" реакцию пентозофосфатного пути использования глюкозы (в 1,7 раза выше по сравнению с контрольной группой). Этот факт так же представляет интерес, поскольку первые две реакции пентозофосфатного пути обеспечивают эритроциты восстановленной формой НАДФ, что имеет большое значение для обеспечения процессов восстановления метгемоглобина и окисленной формы глутатиона [11].

Таблица 2

**Активность гексокиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы в гемолизатах эритроцитов больных ишемической болезнью сердца ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )**

Показатель	Обследованные группы	
	Контрольная группа	Больные ишемической болезнью сердца
Активность гексокиназы, нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>	0,66 ± 0,03	1,36 ± 0,03*
Активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>	0,047 ± 0,002	0,08 ± 0,02*
Активность глутатионредуктазы нмоль·мин <sup>-1</sup> ·мл <sup>-1</sup>	0,105 ± 0,013	0,208 ± 0,010*

\* – достоверность различия по сравнению с контрольной группой (p < 0,05).

Увеличение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах больных сочеталось с увеличением активности окисленной формы глутатиона (в 2,0 раза по сравнению с контрольной группой). Отмеченная связь в изменении активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы может быть объяснена тем, что глутатионредуктаза использует в качестве кофермента восстановленный НАДФ, который образуется в реакциях пентозофосфатного пути [12].

Повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы в целом должно быть направлено на поддержание в эритроцитах оптимального уровня восстановленной формы глутатиона, что является важным условием для сохранения активности ряда эритроцитарных ферментов и постоянства внутриэритроцитарной среды [11].

Таким образом, в результате развития окислительного стресса в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца изменяется активность отдельных ферментов, катализирующих "пусковые" реакции гликолиза и пентозофосфатного пути утилизации глюкозы, а также активность одного из антиоксидантных

ферментов – глутатионредуктазы. Отмеченные изменения в активности изученных ферментов могут быть направлены на поддержание в эритроцитах оптимального уровня макроэргических субстратов (гликолиза), восстановленной формы НАДФ (пентозофосфатный путь) и глутатиона, функционального состояния эритроцитов и иметь определенное компенсаторное значение.

### ВЫВОДЫ

1. Развитие окислительного стресса при ишемической болезни сердца сопровождается интенсификацией гликолитических реакций в эритроцитах, о чем свидетельствует увеличение активности гексокиназы, катализирующей первую "пусковую" реакцию гликолиза.
2. Вместе с этим, в эритроцитах больных ишемической болезнью сердца увеличивается активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, катализирующей первую реакцию пентозофосфатного пути, поставляющего эритроцитам восстановленную форму НАДФ.
3. Отмеченные изменения в активности эритроцитарных ферментов, катализирующих "стартовые" реакции метаболизма глюкозы, сочетаются с увеличением активности в эритроцитах глутатионредуктазы, что в целом может иметь определенное компенсаторное значение.

### Список литературы

1. Афанасьев А.Н. Сравнительная оценка уровня эндогенной интоксикации у лиц разных возрастных групп / А.Н. Афанасьев // Клин. лаб. диагн. – 2004, № 6. – С. 11-13.
2. Ивашов В.А. Состояние отдельных биохимических показателей эритроцитов в норме и при хроническом посттравматическом остеомиелите / В.А. Ивашов, С.В. Коношенко // Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2008. – Т. 21 (60), № 2. – С. 46-49.
3. Новицкий В.В. Белковый спектр мембран эритроцитов у больных раком лёгких и опухолями головы и шеи / В.В. Новицкий, К.Г. Корешкова, Е.А. Степовая [и др.] // Бюллетень эксперим. биологии и медицины. – 1999. Т. 127, – прилож. 1. – С.18-20.
4. Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и азота: значение для диагностики, профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // Биохимия. – 2004. – Т. 69, вып. 1. – с. 5-7.
5. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битирозина в очищенных белках с использованием системы Фентона / Е.Е. Дубинина, С.В. Гавровская, Е.В. Кузьмич [и др.] // Биохимия. – 2002. – Т. 67, вып. 3. – С. 413-421.
6. Drabkin D. A simplified technique for large scale crystallization of myoglobin and haemoglobin in the crystalline / D. Drabkin // Arch. Biochem. – 1949. – V. 21 – P. 224-226.
7. Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yogi // Analit. biochem. – 1979. - V. 95. – P. 351-358.
8. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. Покровского А.А. – М.: Медицина, 1969. – С. 287-288.
9. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А. Кочетов – М.: Высшая школа, 1980. – 271 с.
10. Агабели Р.А. Определение активности глутатионредуктазы / Р.А. Агабели – Баку, 1989. – 120 с.
11. Мак-Мюррей У. Обмен веществ человека / У. Мак-Мюррей – М.: Мир, 1980. – 366 с.
12. Николаев А.Я. Биологическая химия. / А.Я. Николаев – М.: МИА, 2009. – 565 с.
13. Шаповал Г.С. Механизмы антиоксидантной защиты при действии активных форм кислорода / Г.С. Шаповал, В.Ф. Громова // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 2. – С. 5-11.

**Йолкіна Н.М.** Ензиматична активність еритроцитів людини при ішемічній хворобі серця за умов розвитку окиснювального стресу / Н.М. Йолкіна, С.В. Коношенко, Іліас Шашуа, О.В. Жугіна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 124-128.

Показано, що при ішемічній хворобі серця, за умов розвитку окиснювального стресу в еритроцитах зростає активність ферментів, які каталізують «пускові» реакції гліколізу та пентозофосфатного шляху утилізації глюкози (гексокіназа і глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа), а також активність глутатіонредуктази. Зазначені зміни в активності окремих еритроцитарних ферментів можуть мати компенсаторне значення.

**Ключові слова:** еритроцити, гексокіназа, глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназа, глутатіонредуктаза, ішемічна хвороба серця, окиснювальний стрес.

**Yolkina N.M.** The enzymatic activity of human erythrocytes under ischemic heart disease in the conditions of oxidative stress / N.M. Yolkina, S.V. Konoshenko, Ilias Shashua, O.V. Zhugina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 124-128.

It has been shown that under ischemic heart disease in the conditions of oxidative stress the activity of enzymes in erythrocytes that catalysing “trigger” reactions of glycolysis and pentose phosphate pathway is risen. At the same time the activity of glutathionereductase is risen also. The changes of activity of some enzymes in erythrocytes may have the compensatoric significance.

**Keywords:** erythrocytes, hexokinase, glucose-6-phosphate-dehydrogenase, glutathione-reductase, ischemic heart disease, oxidative stress.

*Поступила в редакцію 17.05.2011 г.*



**УДК 582.4/.9:574.24**

**ФЛУКТУИРУЮЩАЯ АСИММЕТРИЯ ЛИСТЬЕВ *MORUS ALBA L.*  
КАК БИОИНДИКАТОР АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ  
УРБОЭКОСИСТЕМ**

*Ибрагимова Э.Э., Бандак И.В., Дрозд А.С.*

*РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина  
E-mail: evelina\_biol@mail.ru*

Проведена оценка изменений стабильности развития *Morus alba L.* в биотопах с различным уровнем техногенной нагрузки. Установлено, что ухудшение экологического состояния урбосреды не обуславливает снижения стабильности развития популяций *Morus alba L.* и может свидетельствовать об их толерантности к аэротехногенному загрязнению.

**Ключевые слова:** *Morus alba L.*, техногенное загрязнение, стабильность развития, флуктуирующая асимметрия, толерантность.

**ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время доминирующим фактором, вызывающим деградацию почв и атмосферного воздуха в урбоэкосистемах является техногенное загрязнение, обусловленное воздействием промышленности, транспорта, а также другими видами антропогенной деятельности [1]. Наиболее опасным и интенсивным источником загрязнения атмосферы городов является автомобильный транспорт [2], в выбросах которого выявлено около 300 вредных веществ, среди которых особую опасность представляют оксиды углерода, углеводороды (канцерогенные бензопирены и бензантрацены, формальдегид, бензол), оксиды азота, сажа, свинец, ртуть, диоксид серы, альдегиды [3, 4].

Проблема техногенного загрязнения окружающей среды обострилась в последнее время и в Крымском регионе, транспортно-коммуникационный комплекс которого характеризуется преобладанием автомобильного транспорта, на долю которого приходится большая часть грузовых и пассажирских внутрикрымских перевозок. И хотя плотность сети автодорог в Крыму несколько меньше, чем в целом по Украине, интенсивность их использования на 20% выше [3]. При анализе динамики выбросов вредных веществ в атмосферу Крыма была установлена тенденция роста загрязнения атмосферы, обусловленная в основном выбросами автотранспорта, на долю которых приходится 70–80% [5], что неизбежно сказывается на состоянии окружающей среды [3]. Основной мишенью экотоксикантов при техногенном загрязнении становятся фитоценозы [6], так как растения не могут уйти от стрессового воздействия и вынуждены адаптироваться к нему с помощью физиолого-биохимических и анатомо-морфологических перестроек организма. Данный факт позволяет использовать

растения в качестве индикаторов загрязнения природной среды различными токсическими веществами [7]. Обнаружение и оценка этих изменений дают достоверную картину условий места произрастания растений и отражают состояние городской среды [8]. В связи с этим особую актуальность приобретают исследования, направленные на изучение последствий загрязнения окружающей среды на растительную компоненту экосистем. Для данной цели широко используются методы фитоиндикации техногенных загрязнений. Одним из таких методов, завоевавшим широкую популярность, является определение флуктуирующей асимметрии как интегрального показателя качества окружающей среды [9]. Под флуктуирующей асимметрией (ФА) понимают независимое изменение билатеральных признаков организма. Установлено, что явление флуктуирующей асимметрии связано с нарушением стабильности развития организма в результате воздействия внешних факторов, в первую очередь – антропогенного [10]. Степень выраженности ФА напрямую зависит от силы воздействия фактора, чем сильнее воздействие фактора, тем большие отклонения от нормы имеет показатель ФА [11], что позволяет на макроскопическом уровне использовать ее в качестве меры в оценке стабильности развития организма [12]. Следовательно, стабильность развития, оцениваемая по уровню ФА – чувствительный индикатор состояния природных популяций [13, 14].

Таким образом, определение влияния аэротехногенного загрязнения на величину флуктуирующей асимметрии листовой пластинки популяций *Morus alba* L. явилось целью нашего исследования.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили деревья шелковицы белой (*Morus alba* L.), произрастающие в с. Соколиное Бахчисарайского района, находящемся на значительном удалении от техногенных источников загрязнения, что позволило нам определить данный биотоп как условный контроль. В качестве опытного варианта была использована придорожная популяция *Morus alba* L., произрастающая на ул. Севастопольской, характеризующейся высокой автотранспортной нагрузкой [15]. Материал для исследования собирали в июне после остановки роста листьев. В каждом биотопе собирали по 10-15 листьев приблизительно одного размера, с укороченных побегов нижней части кроны 10 деревьев приблизительно одного генеративного возраста, без признаков фаутиности. Сильно отличающиеся по размеру или имеющие повреждения листья выбраковывались. Из каждого биотопа было исследовано не менее 100 листьев. Для оценки величины флуктуирующей асимметрии листовой пластинки шелковицы использовали стандартный набор из 5 морфологических признаков [13] характеризующих стабильность формообразования листа в онтогенезе:

- 1 – ширина левой и правой половинок листа (от границы центральной жилки до края листа);
- 2 – длина жилки второго порядка, второй от основания листа;
- 3 – расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка;
- 4 – расстояние между концами этих же жилок;
- 5 – угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка.

Расчет интегрального показателя флуктуирующей асимметрии комплекса морфологических признаков листовой пластинки производили с использованием алгоритма нормированной разности [9]:

$$\bar{A}_1 = \frac{1}{m \cdot n} \cdot \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{(L_{ij} - R_{ij})}{(L_{ij} + R_{ij})},$$

где  $L_{ij}$  и  $R_{ij}$  – значение  $j$ -го признака у  $i$ -го листа соответственно слева и справа от плоскости симметрии и свертки функций, которая в виде конечных сумм может быть представлена следующей формулой [16]:

$$\bar{A}_2 = 1 - \frac{1}{m} \cdot \sum_{i=1}^m \frac{2 \sum_{j=1}^{n_1} L_{ij} \cdot R_{ij}}{\sum_{j=1}^{n_1} (L_{ij}^2 + R_{ij}^2)}$$

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по Н.А. Плохинскому [17] с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение величины интегрального показателя стабильности развития *Morus alba*, произрастающих в биотопах с различной степенью техногенного загрязнения, показало, что исследованные популяции существенных отличий по показателю ФА не имели. В контрольном биотопе в среднем величина интегрального показателя составила 0,0251; для деревьев, произрастающих вдоль трассы на ул. Севастопольской – 0,0351. Отсутствие статистически достоверных отличий с контрольной выборкой по критерию Стьюдента ( $p > 0,05$ ) свидетельствует об отсутствии нарушения стабильности развития популяции *M. alba* опытного биотопа (рис. 1).

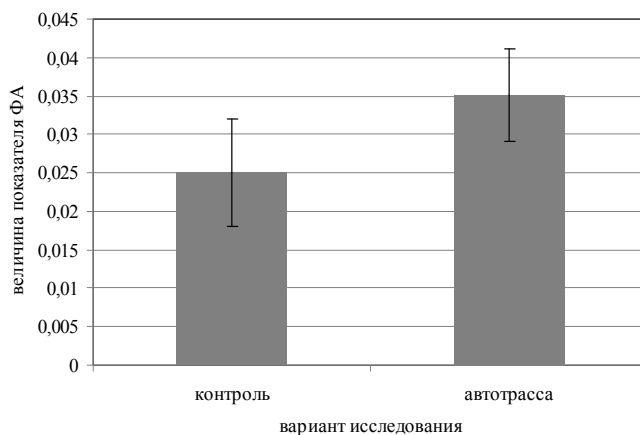


Рис. 1. Сравнительные показатели величины флуктуирующей асимметрии (ФА) ассимиляционного аппарата у популяций *Morus alba* L., произрастающих в биотопах с различным уровнем техногенной нагрузки.

В нашем исследовании установлена слабо выраженная экспрессивность асимметричности признаков, связанная с низким показателем пенетрантности. В частности, в опытной зоне выявлена сравнительно низкая доля ассиметричных листовых пластин – показатель пенетрантности составил 34,5% при контроле 26%. Доля симметричных листьев (65,5%) является мерой онтогенетического гомеостаза и свидетельствует об отсутствии нарушения стабильности развития исследованной культуры при аэротехногенном загрязнении.

Сравнительный анализ величины ФА по каждому из пяти исследованных морфологических признаков, характеризующих стабильность формообразования листовой пластинки *M. alba* в онтогенезе, показал, что статистически достоверными в исследованных выборках были отличия только по двум показателям: расстояние между концами первой и второй жилок; угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка (табл. 1).

Таблица 1.

**Сравнительные показатели средних величин морфологических признаков, характеризующих стабильность формообразования листовой пластины *Morus alba* L., произрастающих в биотопах с различным уровнем техногенного загрязнения**

№	Вариант исследования	Морфологические признаки				
		1	2	3	4	5
1.	Контроль	0,019 ± 0,007	0,021 ± 0,008	0,019 ± 0,026	0,662 ± 0,015	0,001 ± 0,0001
2.	Автотрасса	0,022 ± 0,006	0,021 ± 0,009	0,082 ± 0,022	0,100 ± 0,015**	0,0488 ± 0,013*

Примечание. отличия от контроля достоверны при \* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,001$

Данный факт позволил нам установить причину низкого уровня пенетрантности асимметричности признаков. Становится очевидным, что чем меньше статистически отличных морфологических признаков будут характеризовать выбранные для анализа выборки, тем ниже будет их экспрессивность и, как следствие, пенетрантность.

В целом, несмотря на различия исследованных популяций по отдельным показателям, суммарная величина интегрального показателя ФА практически не отличалась от контрольного биотопа. Наши данные согласуются с представленными в литературе. В частности при исследовании ФА популяций липы мелколистной, произрастающих в биотопах с различным уровнем антропогенного загрязнения, существенных различий по исследованному показателю исследователями обнаружено не было [18], в связи с этим они пришли к заключению о невозможности использования данной культуры для фитоиндикационных исследований по определению интегрального показателя ФА.

Полученные нами данные позволили прийти к заключению, что шелковица является культурой толерантной к аэротехногенному загрязнению среду, о чем

свидетельствует низкий показатель величины  $\Phi A$ , свидетельствующий об отсутствии нарушения стабильности ее онтогенетического развития. Устойчивость растений к действию аэротоксикантов связана с их способностью благодаря анатомо-морфологическим, физиологическим и биохимическим особенностям выдерживать значительные концентрации токсических газов без снижения роста и развития [19, 20]. Данный факт позволяет рекомендовать *Morus alba* для использования в озеленении урбоэкосистем с высоким уровнем аэротехногенного загрязнения.

Определение толерантных к техногенному загрязнению культур – востребованное направление современных экологических исследований, так как они могут использоваться для фиторекультивации. Для защитных полос вдоль магистралей необходимо применять более долговечные виды растений, устойчивые к воздействию выхлопных газов автомобилей. Возникает проблема выяснения степени устойчивости растений, используемых в озеленении урбанизированных экосистем к действию атмосферных токсикантов. Анализ литературных данных свидетельствует, что многие авторы активно занимаются проблемой устойчивости растений к аэротехногенному загрязнению [19–22]. При сравнительном анализе толерантности *Ailanthus glandulosa*, *Carpinus betulus*, *Tilia aryentea* и *Quercus cerris* к техногенным химическим загрязнениям, была установлена устойчивость *Q. cerris* [21]. Аналогичное исследование проводилось с *Populus deltoides*, *Betula verrucosa* и *Acer saccharinum*. Толерантным к аэротехногенному загрязнению оказались *P. deltoides* и *B. verrucosa* [23–25]. Кагарманов И.Р. и Уразгильдин Р.В. [19] также рекомендуют в местах высокой концентрации загрязнений использовать представителей рода *Populus* L. (*P. deltoides*, *P. simonii* Carr., *P. nigra*), так как они обладают высокой металлаккумулирующей способностью [26]. Рунова Е.М. и Чжан С.А. [27] установили высокую газоустойчивость *P. deltoides* и *Caragana arborescens*. В связи с этим исследователи рекомендуют использовать указанные культуры в санитарно-защитных зонах техногенных центров.

Следовательно, отсутствие статистически значимых различий показателя флуктуирующей асимметрии у деревьев, произрастающих в урбоэкосистемах с разной степенью антропогенной нагрузки, может свидетельствовать об их толерантности к аэротехногенному загрязнению.

## ВЫВОДЫ

1. В исследовании не выявлена значимая зависимость величины флуктуирующей асимметрии *Morus alba* L. от уровня антропогенной нагрузки.
2. Отсутствие статистически значимых различий показателя флуктуирующей асимметрии у деревьев, произрастающих вдоль автотрассы, по сравнению с контрольными, свидетельствует об их толерантности к аэротехногенному загрязнению.
3. Рекомендуется использовать *Morus alba* L. для озеленения урбоэкосистем как толерантную к аэротехногенному загрязнению культуру.

Список литературы

1. Титова В. И. Некоторые подходы к экологической оценке загрязнения земельных угодий / В. И. Титова, М. В. Дабахов, Е. В. Дабахова // Почвоведение. – 2004. – № 10. – С. 1264–1267.
2. Бочаров В. Л. Эколого-геохимические методы оценки загрязнённости атмосферы малых городов / В. Л. Бочаров, Ю. В. Иванов // Вестн. Воронеж. ун-та. Сер. геол. – 1997. – № 4. – С. 137–145.
3. Багрова Л. А. География Крыма: Учеб. пособие для учащихся общеобразоват. учеб. заведений / Л. А. Багрова, В. А. Боков, Н. В. Багров – К.: Лыбидь, 2001. – 304 с.
4. Мельников Н. Н. Органические соединения хлора в окружающей среде / Н. Н. Мельников, С. Р. Белан // Агрoхимия. – 1998. – № 10. – С. 83–93.
5. Шибанов С.Э. Основные экологические проблемы Крыма / С.Э. Шибанов // Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції “Сучасні наукові дослідження – 2006”. – Т. 18. – Екологія. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С. 24–26.
6. Tekle K. Vegetation on hill slopes in southern Wello, Ethiopia: Degradation and regeneration / K. Tekle, I. Backeus, J. Skoglund, Z. Woldu // Nord. J. Bot. – 1997. – V. 17. – № 5. – P. 483–493.
7. Татарина Т.А. Величина флуктуирующей асимметрии листьев березы повислой (*Betula pendula* Roth.) – возможный индикатор качества городской среды / Т.А. Татарина // Материалы Международной конференции студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов». Выпуск 4. – М.: Изд-во МГУ, 2000. – С. 71–72.
8. Лозановская И.Н. Экология и охрана биосферы при химическом загрязнении / И.Н. Лозановская, Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова – М.: Высш. шк. – 1998. – 287 с.
9. Захаров В.М. Здоровье среды: практика оценки. Центр экологической политики России / [В.М. Захаров, А.Т. Чубинишвили, С.Г. Дмитриев, А.С. Баранов, В.И. Борисов, А.В. Валецкий, В.Ю. Крысанов, Н.Г. Кряжева, А.В. Пронин, Е.К. Чистякова]. – М., 2000. – 318 с.
10. Kozlov M.V. Fluctuation asymmetry of birch leaves increases under pollution impact / M.V. Kozlov, B.J. Wilsley, J. Koricheva, E. Naukioja // J. Appl. Ecology. – 1996. – № 33. – P. 1489–1495.
11. Зорина А.А. Характеристика флуктуирующей асимметрии лист двух видов берез в Карелии / А.А. Зорина, А.В. Коросов // Экология. Экспериментальная генетика и физиология. Труды Карельского научного центра РАН. – Выпуск 11. – 2007. – С. 28–36.
12. Захаров В.М. Онтогенез и популяция (стабильность развития и популяционная изменчивость) / В.М. Захаров // Экология. – 2001. – № 3. – С. 177–191.
13. Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур) / МПР РФ; Введ. 16.10.03. – № 460-Р. – М., 2003. – 24 с.
14. Солдатова В.Ю. Флуктуирующая асимметрия березы плосколистной (*Betula platyphylla* Sukacz.) как критерий качества городской среды и территорий, подверженных антропогенному воздействию (на примере Якутии): Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / В.Ю. Солдатова – Якутия, 2006. – 18 с.
15. Асанова У.Б. Учет автотранспортной нагрузки в урбоэкосистемах / У.Б. Асанова, Л.А. Усеинова // Ключ к будущей профессии. Выпуск 4. – Симферополь: НИЦ КИПУ, 2009. – С. 137–139.
16. Гелашвили Д.Б. Структурные и биоиндикационные аспекты флуктуирующей асимметрии билатерально-симметричных организмов / Д.Б. Гелашвили, Е.В. Чупрунов, Д.И. Иудин // Журнал общей биологии. – 2004. – Т. 65, № 5. – С. 433–441.
17. Плохинский Н. А. Биометрия / Н.А. Плохинский. – М.: МГУ, 1970. – 367 с.
18. Баранов С.Г. Изучение признаков для оценки флуктуирующей асимметрии листовой пластины липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill.) южной части Московской области / С.Г. Баранов // Фундаментальные медико-биологические науки и практическое здравоохранение: сб. науч. трудов 1-й Международной телеконференции (Томск 20 января-20 февраля, 2010). – Томск: СибГМУ, 2010. – С. 43–46.
19. Кагарманов И.Р. Насаждения тополей в городе Уфе: Биологические особенности и перспективы использования / И.Р. Кагарманов, Р.В. Уразильдин // Геоэкол. В Урало-Касп. регионе: Тез. докл. междунар. науч.-практ. конф., Уфа, сент., 1996. – Ч. 2. – Уфа, 1996. – С. 18–20.
20. Жарко Л.Е. Рост и развитие березы повислой в городских условиях / Л.Е. Жарко // Ботан. исслед. в Сибири. – 1995. – № 4. – С. 27–28, 99.

21. Tsvetkova N. Effect of air pollution on carbohydrate and nutrients concentration in some deciduous tree species / N. Tsvetkova, D. Kolarov // Bulg. J. Plant Physiol. – 1996. – Vol. 22. – № 1–2. – P. 53–63.
22. Ибрагимова Э.Э. Индикация загрязнения среды автотранспортными выбросами по их гаметоцидному действию на растения / Э.Э. Ибрагимова // Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції “Сучасні наукові дослідження – 2006”. – Т. 18. – Екологія. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – С. 45–48.
23. Lorenc-Plucińska G. Pobieranie cukrów przez liście klonu srebrzystego (*Acer saccharinum* L.) działanie siarczynu / G. Lorenc-Plucińska // Arbor. kor. – 1993. – Vol. 38. – P. 53–64.
24. Lorenc-Plucińska G. Wpływ siarczynuna fotosyntezę i transport sacharozy w liściach topoli / G. Lorenc-Plucińska, J. Figaj // Arbor. kor. – 1993. – Vol. 38. – P. 75–78.
25. Кулагин А.Ю. Роль лесных насаждений в поглощении металлов в условиях техногенного загрязнения окружающей среды / А.Ю. Кулагин, А.А. Баталов, Р.Х. Гиниятуллин // Междунар. науч. конф. «Влияние атмосф. загрязнения и др. антропог. и природ. факторов на дестабилиз. состояния лесов Центр. и Восточ. Европы» [Москва, 1996]: Тез. докл. Т. 1. – М., 1996. – С. 61–62.
26. Корнелюк Н.М. Кора дерев – модельный объект в системе комплексного мониторингу атмосферы м. Черкаси за вмістом важких металів / Н.М. Корнелюк // I Всеукр. з'їзд екол. (ECOLOGY-2006). Тези допов. Міжнар. наук.-практ. конф. м. Вінниця, 4-7 жовт. 2006 р. – В.: УНІВЕРСУМ-Вінниця, 2006. – С. 95.
27. Рунова Е.М. Лесовосстановительные мероприятия в техногенных зонах г. Братска / Е.М. Рунова, С.А. Чжан // Человек – Среда – Вселенная: Тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф., Иркутск, 16-20 июня, 1997. Т. 1. – Иркутск, 1997. – С. 66–67.

**Ибрагимова Е.Е. Флуктуирующая асимметрия листьев *Morus alba* L. как биоиндикатор аеротехногенного загрязнения урбоэкосистем / Е.Е. Ибрагимова, И.В. Бандак, А.С. Дрозд // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 129-135.**

Проведено оцінку змін стабільності розвитку *Morus alba* L. у біотопах з різним рівнем техногенного навантаження. Встановлено, що погіршення екологічного стану урбосередовища не обумовлює зниження стабільності розвитку *Morus alba* L. І може свідчити про їх толерантність до аеротехногенного забруднення.

**Ключові слова:** *Morus alba* L., техногенне забруднення, стабільність розвитку, флуктуирующая асиметрія, толерантність.

**Ibragimova E.E. Fluctuating asymmetry leaves *Morus alba* L. as bioindicators of aerotechnogenic pollution urboecosystems / E.E. Ibragimova, I.V. Bandak, A.S. Drozd // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 129-135.**

The article deals with the estimate of stability changes in the development of *Morus alba* L. in biotopes with different level of technogenic work. It was determined that the deterioration of the urbanized environment ecological not condition causes the decrease of stability in development of *Morus alba* L. and can testify their tolerance to aerotechnogenic pollution.

**Keywords:** *Morus alba* L., technogenic pollution, development sability, fluctuating asymmetry, tolerance.

Поступила в редакцію 17.05.2011 г.

**УДК 636.591+612.664:616.89-008.441+591.36**

## **РІВЕНЬ ТРИВОЖНОСТІ ДОРΟΣЛИХ ЩУРІВ, ЩО БУЛИ ПІДДАНІ У РАННІЙ ПОСТНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД ДІЇ СТРЕСУ ТА СПОЛУК З ЕСТРОГЕНОВОЮ АКТИВНІСТЮ**

*Карпенко Н.О., Смоленко Н.П.*

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН  
України», Харків, Україна  
E-mail: nina\_karpenko@mail.ru*

Досліджено рівень тривожності у тесті «Піднятий хрестоподібний лабіринт» у дорослих щурів обох статей, матері яких в період лактації отримували з раціоном сполуки з естрогенною активністю та/або зазнавали емоційного стресу відокремлення від виводку. У самців імпринтинговими наслідками стресу були прояви тривожно-депресивного стану. Цей анксиогенний ефект стресу пом'якшувався у разі надходження з молоком сполук з естрогенною активністю. У самок маніпуляції під час молочного вигодовування не змінювали поведінку у дорослому віці.

**Ключові слова:** стрес, фітоестрогени, естрадіол, підсосний період, тривожність, щури.

### **ВСТУП**

Активні процеси росту та розвитку молодого організму визначають величезне значення психоемоційного стану та характеру харчування угруповання мати-дитина під час вагітності та лактації для створення міцного фундаменту здоров'я дорослої особини.

В останнє десятиріччя як клінічні, так і експериментальні дослідження свідчать про сталі та потенційно небезпечні нейроендокринні наслідки стресових впливів на ранніх стадіях онтогенезу [1]. У модельних дослідках (на гризунах та мавпах) показано, що стрес у нащадків внаслідок порушення звичного взаємозв'язку з матір'ю може викликати збудження або пригнічення реактивності стрес-систем, яке зберігається і у дорослих тварин. Спрямованість викликаних відмінностей гіпофізарно-адреналової відповіді залежить як від віку, коли відбувався стрес [2], так і від природи та періодичності стресових умов [3]. З іншого боку, через зміни у харчовій промисловості, спрямовані на здешевлення виробництва, постерігається збільшення в раціоні вагітних жінок та матерів-годувальниць питомої частини сої та її похідних, які є багатим джерелом фітоестрогенів (ФЕ). Останні надходять до амніотичної рідини та до грудного молока [4] і здатні змінювати гормональну індукцію формування структур головного мозку у плода, дозріванні центральної нервової системи нащадків [5], викликати транзиторні або перманентні зміни процесів статевого розвитку та дозрівання особин [6]. Останні, крім усього, можуть посилюватись порушенням балансу нейропептидів у гіпоталамусі [7].



З огляду на вищенаведене виникає питання про можливість зміни імпринтингової дії стресу у ранньому постнатальному періоді онтогенезу сполуками з естрогеноподібною дією. Тому метою нашої роботи було визначення змін емоційного стану за показниками поведінки у незнайомих умовах, тобто стрес-реактивності, у щурів обох статей, які під час фізіологічного молочного вигодовування зазнавали емоційного стресу та отримували з молоком матері надлишок ФЕ.

### **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Інтактні вагітні самки популяції Вістар, запліднені інтактними самцями, за 2-3 дні до пологів були рандомізовані на групи з умовними позначками Контроль (інтактні тварини), Стрес, Стрес+ФЕ, Стрес+Е2.

Після пологів у групі Стрес був відтворений емоційний стрес нащадків за моделлю «clean bedding»), для чого їх з 3 по 15 добу життя відокремлювали від виводку та матері на 15 хв і розміщували на чисту підстилку. На цей час самка поміщалась у пусту клітку, де до того знаходились самці (експозиція до запаху "чужого" самця) [8]. У групах Стрес+ФЕ та Стрес+Е2 тварини зазнавали одночасного впливу такого ж стресу та отримували з молоком матері надлишок ФЕ або Е2. Для цього самкам групи Стрес+ФЕ з 3 по 21 день лактації згодовували ФЕ у дозі 100 мг/кг м. т. матері. Для порівняння дії ФЕ з дією природного естрогену у той же період самки групи Стрес+Е2 отримували з їжею 17 $\beta$ - естрадіол (Е2) у дозі 0,25 мг/кг м. т. [9].

Для моделювання аліментарного надходження надлишку ФЕ використовували БАД Genistein Soy Complex isoflavone-rich, фірми SoyLife, USA з відносним вмістом даїдзейну – 60, гліцитеїну –22 та геністеїну 18 % [10]. Дозу розраховували за так званим „геністеїновим еквівалентом”. Дозу Е2 було обрано на підставі порівняння змін гормонального профілю при дії різних доз естрогена [11] та ФЕ [12].

По досягненні тваринами 90-денного віку у щурів визначали рівень тривожності у піднятому хрестоподібному лабіринті (ПХЛ) [13]. У хрестоподібній камері протягом 5 хв в проміжку між 15 і 16 год візуально реєстрували кількісні та часові (за секундоміром "Агат") характеристики поведінки, перелік яких наведено у таблиці.

Експеримент виконано відповідно до національних “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001).

Отримані дані представлені як середнє арифметичне та його похибка ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ , розподіл даних у групах відповідає закону нормального розподілу), значущість різниці між групами визначали за допомогою множинних порівнянь за Шеффе і вважали статистично достовірними при  $P < 0,05$  [14].

### **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

Аналіз поведінки щурів у ПХЛ дає можливість визначити у тварин, які опинилися у нових умовах, ступінь вираженості емоційної реакції страху та

тривоги, рухову активність, швидкість орієнтовних реакцій. Цей тест вважають дуже чутливим і використовують для оцінки дії анксиолітичних і анксиогенних препаратів [15].

При дослідженні 90-денних інтактних тварин було виявлено, що показник вертикальної активності самців цієї групи склав  $4,0 \pm 0,6$  стійок, у той час, як показник оцінки ризику, про що свідчить кількість заглядань униз із закритого рукава, дорівнював  $1,4 \pm 0,6$  (таблиця). Кількість заглядань униз із відкритого рукава була значно меншою –  $0,4 \pm 0,4$ . У цих тварин кількість актів грумінгу та дефекації була однаковою –  $0,4 \pm 0,3$  за тест. Уринації у цих тварин під час перебування у ПХЛ взагалі не спостерігались. При порівнянні отриманих даних з даними літератури [16] звертає увагу наявність значних відмінностей поведінки щурів за усіма показниками. Так, у дорослому віці (12-14 міс.) кількість окремих елементів поведінки щурів перевищувала таку у 90-денних у кілька разів. На наш погляд це пов'язано з віковими особливостями реагування на нові обставини і може пояснюватись більшим досвідом доросліших тварин.

Маніпуляції під час лактації по відокремленню від виводку та експозиція до запаху чужих самців викликали у лактуючих самок у перші дні стресування занепокоєння, через що вони не одразу поверталися до гнізда годувати щурят. На 4-5 доби досліду ця реакція поступово зникала, що співпадало з даними літератури [8].

Крім строків наслідків емоційного стресу під час молочного вигодовування виявлені й віддалені зміни поведінки нащадків – на 90 добу життя. У самців щурів значуще знижувалась кількість стійок у ПХЛ за тест (на 55 %,  $P < 0,05$ ). У той же час, у них на 66 % збільшувались показники оцінки ризику ( $P < 0,05$ ), про що свідчили зміни кількості заглядань униз із закритого рукава. Треба відзначити, що у стресованих у ранньому віці щурів у 4,7 рази збільшилась частота реакцій грумінгу ( $P < 0,05$ ). Але необхідно підкреслити, що час одного акту грумінгу у тварин цієї групи скоротився, у його характері проявлялася стереотипія (зацикловання на одному й тому ж елементі умивання), а сам цей поведінковий акт не досягав своїх фінальних стадій. Аналогічні дані щодо стереотипії грумінгу у дорослих щурів, підданих стресу, були отримані Лоскутовою Л.В. [17]. Також на те, що незавершений грумінг вказує на його стресорний характер, звертає увагу Калугев А. В. [18]. Усі ці зміни свідчать, що у цій групі емоційний статус тварин, які опинилися у нових умовах, характеризується вираженою реакцією тривоги з фобічним компонентом.

Дослідження поведінки самців групи Стрес + ФЕ порівняно з групою Контроль показало, що мали місце аналогічні зміни. У тварин спостерігалось збільшення кількості заглядань униз із закритих (на 58%,  $P < 0,05$ ) та відкритих рукавів (на 66,5 %,  $P < 0,05$ ), а також частоти грумінгу (на 66,7 %,  $P < 0,05$ ). В той же час знижувалась кількість стійок (на 62,5 %,  $P < 0,05$ ). За дослідженими показниками статистично достовірних відмінностей між групами Стрес та Стрес + ФЕ нами не виявлено.

Таблиця

Показники рівня тривожності щурів у ПХЛ, які у післянатальний період життя були піддані стресу та отримували сполуки з естрогенною активністю

Показник	Група			
	Контроль (n=8)	Стрес (n=10)	Стрес+ ФЕ (n=11)	Стрес+E2 (n=12)
самці				
Кількість виходів у відкриті рукава	1,4±0,3	1,6±0,3	1,8±0,4	0,8±0,3
Кількість стійок	4,0±0,6	1,8±0,5 <sup>a)</sup>	1,5±0,5 <sup>a)</sup>	2,0±0,6 <sup>a)</sup>
Кількість заглядань униз із закритих рукавів	1,4±0,56	2,3±0,3 <sup>a)</sup>	3,3±0,7 <sup>a)</sup>	2,1±0,4
Кількість заглядань униз з відкритих рукавів	0,4±0,4	2,2±0,6 <sup>a)</sup>	2,9±1,3 <sup>a)</sup>	0,7±0,4 <sup>b)</sup>
Кількість переходів через центр майданчика	3,4±0,3	4,5±0,7	4,1±0,7	4,8±0,8
Кількість грумінгів	0,4±0,3	1,8±0,5 <sup>a)</sup>	1,2±0,3	0,7±0,3 <sup>b)</sup>
Кількість дефекацій	0,4±0,3	2,8±0,7	1,0±0,4	1,0±0,5
Кількість урінацій	0,0±0,0	0,3±0,3	0,5±0,2	0,1±0,1
Латентний період заходу до закритого рукава, с	35,9±7,8	47,6±22,0	43,6±19,5	34,7±9,6
Час у відкритих рукавах, с	37,0±12,5	47,5±21,2	46,9±18,7	21,3±8,4
самки				
Кількість виходів у відкриті рукава	0,8±0,3	1,0±0,4	1,0±0,2	1,3±0,3
Кількість стійок	2,8±0,6	2,3±1,0	5,3±1,1	2,5±0,5
Кількість заглядань униз із закритих рукавів	2,2±0,3	3,0±0,7	3,3±0,7	2,5±0,6
Кількість заглядань униз з відкритих рукавів	0,8±0,3	0,3±0,3	0,9±0,4	0,9±0,41
Кількість переходів через центр майданчика	3,6±0,8	4,7±0,9	4,7±0,4	4,1±1,0
Кількість грумінгів	1,1±0,3	0,7±0,5	1,1±0,3	1,2±0,3
Кількість дефекацій	0,0±0,0	0,3±0,3	0,6±0,4	0,4±0,3
Кількість урінацій	0,1±0,1	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Латентний період заходу до закритого рукава, с	22,3±3,4	49,3±19,8	25,7±7,3	47,9±11,4 <sup>b)</sup>
Час у відкритих рукавах, с	20,0±9,9	23,7±10,5	12,5±3,5	31,1±8,2

Примітка. <sup>a)</sup> статистично достовірні відмінності від показників групи Контроль; <sup>b)</sup> – від показників групи Стрес та Стрес+E2; <sup>b)</sup> – між групами Стрес+ ФЕ та Стрес+E2

У випадку надходження надлишку E2 на тлі стресу відмічено статистично значуще зниження оцінки ризику – зменшення кількості заглядань униз з відкритих рукавів (на 69,1 %,  $P < 0,05$ ), а також частоти грумінгу (на 62,8 %,  $P < 0,05$ ) порівняно з групою Стрес. Низький рівень грумінгу у цих самців свідчив про низьку емоційність і, ймовірно, про низький рівень страху [18]. Ці зміни говорять про анксиолітичну дію поєданого впливу дії E2 та ситуації стресу, яка носить імпринтинговий характер.

При порівнянні віддалених наслідків комбінованого впливу стресу та того чи іншого чинника з естрогенною активністю було виявлено більш високу кількість виходів у відкриті рукава у щурів групи Стрес+ФЕ порівняно з самцями групи Стрес+E2 (у 2,4 рази,  $P < 0,05$ ). Це дозволяє припустити наявність менш виражених анксиогенних компонентів в поведінці тварин, які отримували з молоком фітоестрогени на тлі стресу.

Тестування у ПХЛ самок щурів контрольної групи показало, що кількість стойок (вертикальна активність) дорівнювала –  $2,8 \pm 0,6$  за тест. Кількість заглядань униз із закритого та відкритого рукавів складала  $2,2 \pm 0,3$  та  $0,8 \pm 0,3$ , відповідно. Кількість грумінгів була  $1,1 \pm 0,3$ . Дефекації та уринації у цих самок під час знаходження у ПХЛ не спостерігалось.

На відміну від самців, самки щурів, які зазнавали стресу під час фізіологічного молочного вигодовування (група Стрес), реагували на умови ПХЛ практично так же, як інтактні тварини.

При тестуванні в ПХЛ рівня тривожності самок щурів групи Стрес+ФЕ у порівнянні з показниками групи Стрес виявлено статистично вірогідне збільшення кількості заглядань у закриті рукава. За іншими показниками відмінностей не знайдено (див. табл.). У самок групи Стрес+E2 рівень тривожності був аналогічним такому у групах Стрес та Контроль. Тобто, у самок за показниками тривожності ФЕ та E2 не оказують потенціюючого або пом'якшуючого впливу на дію післянатального стресу.

При порівнянні груп самок Стрес+ФЕ та Стрес+E2 було виявлено більш подовжений латентний період заходу до закритого рукава у групі Стрес+E2 (на 86 %,  $P < 0,05$ ) на тлі тенденції до збільшення часу перебування у відкритих рукавах. Це може говорити про дещо знижений рівень тривоги у групі самок, які під час лактації на фоні стресу отримували E2, а не ФЕ. Тобто, можна казати про активацію позитивних систем мозку у цих тварин.

Повідомляють, що естрогени здатні пригнічувати синтез мРНК проопіомеланокортину - попередника АКТГ, призводячи до зменшення доступності та вивільнення АКТГ, тобто жіночий статевий гормон може зменшити розмах стрес-відповіді [19]. Відносно ФЕ, які здатні зв'язуватись з рецепторами до E2 і імітувати його дію, дані суперечливі. Так, показано здатність ізофлавонів змінювати активність гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової вісі та пригнічувати секрецію глюкокортикоїдних гормонів у дорослих щурів [20], хоча за даними інших дослідників у дорослих щурів додавання ФЕ до раціону сприяє зростанню тривожності в стресових умовах [21], що може пояснити отримані результати.

Таким чином, порушення програми становлення поведінки дорослої особини під час критичних періодів онтогенезу внаслідок дії стресу можуть бути модифіковані за умов одночасного впливу сполук з естрогенною активністю. Такий

ефект, що залежить від статі тварин, можливо визначається й силою стрес-фактора. Тому перспективним вважається дослідження різних видів поведінки (статевої, харчової, агресивної, батьківської) та емоційних реакцій на такому модельному об'єкті, як щур, за умов різної насиченості організму глюкокортикоїдами та естрогенами у ранньому постнатальному періоді. Це дозволить виявити деякі причини поведінкових розладів у людини у зрілому віці та патогенетично обґрунтувати шляхи їх профілактики та корекції.

### **ВИСНОВОК**

1. Відокремлення нащадків від матері та вигону, додатковий вплив її тривожної поведінки після експозиції до запаху "чужого" самця у дорослих нащадків чоловічої статі приводять до появи у поведінці компонентів тривожно-депресивного стану. У самок щурів імпринтингової дії емоційного стресу не виявлено.
2. Аліментарне надходження сполук з естрогенною активністю пом'якшує у самців анксиогенну дію емоційного стресу у критичний період фізіологічного молочного вигодовування, що у дорослому віці проявляється меншою тривожністю у нових умовах. У самок такий поєднаний вплив змінами у поведінці у дорослому віці не позначається.

### **Список літератури**

1. Interaction with stressed mothers affects corticosterone levels in pups after reunion and impairs the response to dexamethasone in adult mice / A. Moles [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2008. – Vol. 33, № 4. – P. 462–470.
2. Cerebrospinal fluid concentrations of biogenic amines and corticotropin-releasing factor in adolescent non-human primates as a function of the timing of adverse early rearing / S.J. Mathew, J.D. Coplan, E.L. Smith [et al.] // *Stress*. – 2002; – Vol. 5. – P. 185–193.
3. Long-term effects of early-life environmental manipulations in rodents and primates: Potential animal models in depression research / C.R. Pryce, Ruedi- D. Bettschen, A.C. Dettling [et al.] // *Neurosci Biobehav Rev*. – 2005. – Vol. 29. – P. 649–674.
4. Xenobiotic phenols in early pregnancy amniotic fluid / S.M. Engel, B. Levy, Z. Liu [et al.] // *Reprod. Toxicol*. – 2006. – Vol. 21. – P. 110–112.
5. Patisaul, H.B. Neonatal exposure to endocrine active compounds or an ERbeta agonist increases adult anxiety and aggression in gonadal intact male rats / H.B. Patisaul, H.L. Bateman // *Horm. Behav*. – 2008. – Vol. 53. № 4. – P. 580-588.
6. Effects of Genistein or Soy Milk During Late Gestation and Lactation on Adult Uterine Organization in the Rat [Text] / C. L. Hughes, G. Liu, S. Beall [et al.] // *Experim. Biol. Med*. – 2004. – № 229. – P. 108-117.
7. Nilsson, R. Endocrine modulators in the food chain and environment [Text] / R. Nilsson // *Toxicol. Pathol*. – 2000. – Vol. 28, № 3. – P. 420–431.
8. Moles, A. Postnatal stress in mice: does "stressing" the mother have the same effect as "stressing" the pups? [Text] / A. Moles, R. Rizzi, F. R. D'Amato // *Dev. Psychobiol*. – 2004. –Vol. 44, № 4. – P. 230–237.
9. 90-Day Feeding and One-Generation Reproductive Study in Crl:CD BR Rats with 17beta-Estradiol [Text] / L. B. Biegel, A. N. Hirshfield, J. C. O'Connor [et al.] // *Toxicol. Sciences*. – 1998. – Vol. 44. – P. 116–142.
10. Вивчення складу соєвого продукту Genistein Soy Complex хроматографічними методами / А.І. Гладкова, Ф.Г. Яременко, Л.Є. Нікішина, С.В. Кравченко // «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології»: Матер. наук.-практ. конф. Харків, 3-4 бер. 2011 р. Харків. - 2011. – С. 29-30.

11. Effects of Dietary 17beta-Estradiol Exposure on Serum Hormone Concentrations and Testicular Parameters in Male Crl:CD BR Rats / J. C. Cook, L. Johnson, J. C. O'Connor [et al.] // *Toxicol. Sciences.* – 1998. – Vol. 44. – P. 155–168.
12. Влияние фитоэстрогенов на уровень половых гормонов и фертильность крыс [Текст] / Е.В. Сомова, А.И. Гладкова, Н.А. Карпенко [и др.] // *Пробл. эндокрин. патології.* – 2010. – № 1 – С. 82–89.
13. File, S. E. Recent developments in anxiety, stress, and depression / S. E. File // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 1996. – V. 54, № 1. – P. 3–12.
14. Лакин, Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.
15. Rodgers, R.J. Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors / R.J. Rodgers, J.C. Cole // *Physiol. Behav.* – 1993. – Vol. 53. – P. 83–388.
16. Картавцева, О.В. Вплив стресу харчової депривації та гіпокінезії на показники тривожності в самиць щурів-нашадків гестаційно стресованих матерів / О.В. Картавцева, Л.Ю. Сергієнко, О.В.Перець // *Проблеми ендокринної патології.* - 2010. - № 4. – С. 78-84.
17. Лоскутова, Л.В. Сверхмалые дозы антител к белку S100 и пептиду дельта-сна: эффективность при депрессивно-тревожном состоянии у крыс / Л.В. Лоскутова, М.Б. Штарк, О.И. Эпштейн // *Бюл. Эксперим. Биологии и медицины.* – 2003.- Приложение. С. 24-26.
18. Калуев, А.В. Разбор груминга в нейробиологических исследованиях: нейрогенетика, нейрофармакология и экспериментальные модели стресса / А.В. Калуев // *Нейронауки.* - 2006. – Т. 4, № 6. - С. 27-30.
19. Redei, E. Fast glucocorticoid feedback inhibition of ACTH secretion in the ovariectomized rat: effect of chronic estrogen and progesterone / E. Redei, L. Li, I.Halasz [et al.] // *Neuroendocrinol.* – 1994. - Vol. 60, № 2. - P. 113-23.
20. Genistein affects the morphology of pituitary ACTH cells and decreases circulating levels of ACTH and corticosterone in middle-aged male rats / V.Z. Ajdzanovi, B.T. Sosi-Jurjevi, B.R. Filipóvi, [et al.] // *Biol Res.* – 2009. - Vol 42, № 1. – P. 13-23.
21. Ермакова, И.В. Адаптивные процессы при решении когнитивных задач крысами с разным уровнем и типом тревожности / И.В. Ермакова, В.А. Глазкова // *Современ. пробл. науки и образования.* – 2008. – № 6. – С. 20.

**Карпенко Н.А. Уровень тревожности взрослых крыс, подвергнутых в ранний постнатальный период действию стресса и соединений с эстрогенной активностью / Н.А. Карпенко, Н.П. Смоленко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 136-142**

Исследован уровень тревожности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у взрослых крыс обоего пола, матери которых в период лактации получали с кормом вещества с эстрогенной активностью и/или подвергались стрессу отделения от выводка. У самцов импринтинговыми последствиями стресса были проявления тревожно-депрессивного состояния. Этот анксиогенный эффект стресса смягчался в случае поступления с молоком соединений с эстрогенным действием. У самок манипуляции во время молочного вскармливания не меняли поведение во взрослом состоянии.

**Ключевые слова:** стресс, фитоэстрогены, эстрадиол, подсосный период, тревожность, крысы.

**Karpenko N.O. The level of anxiety of adult rats were stressed and feed substances with estrogenic property at early postnatal period / N.O. Karpenko, N.P. Smolenko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 136-142.**

The level of anxiety of adult rats which were exposed to maternal separation stress or abundance of substances with estrogenic property during suckling has been examined. The imprinting anxiety-depressing events had been found out in adult males from the Stress group. The weakening of this anxiogenic effect of stress is observed at males were exposed to both stress and substances with estrogenic property. The manipulations during suckling have not influence on the behaviour of adult females.

**Keywords:** stress, phytoestrogens, estradiol, suckling, anxiety, rats.

*Поступила в редакцию 12.05.2011 г.*

**УДК 573.6:579.22:579.26:579.843**

**УСТАНОВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ СТРУКТУРА-  
АКТИВНОСТЬ (SAR) ДЛЯ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛ-О-В-D-  
ГЛЮКОЗАМИНИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕСТА НА  
СВЕТАЩИХСЯ БАКТЕРИЙ**

*Кацев А.М.<sup>1</sup>, Курьянов В.О.<sup>2</sup>, Чупахина Т.А.<sup>2</sup>, Чирва В.Я.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского,  
Симферополь, Украина

<sup>2</sup>Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: katsev@mail.ru

С использованием биотеста на морских светящихся бактериях выявлено биологическое действие новых соединений-производных арил-О-β-D-глюкозаминидов. Показано, что эффект ингибирования бактериальной люминесценции связан с определенными функциональными группами, а также зависит от липофильности веществ. Построены QSAR-модели зависимости биологического эффекта от ClogP.  
**Ключевые слова:** биолюминесценция, светящиеся бактерии, биотест, QSAR.

**ВВЕДЕНИЕ**

Биотест, основанный на использовании морских светящихся бактерий в качестве тест-объектов, широко используется во всем мире для анализа токсичности водных сред [1]. Исследования показали, что вещества с различным механизмом биологического действия, в том числе лекарственные препараты, ингибируют бактериальную биолюминесценцию [2]. Для некоторых групп лекарственных веществ, как, например, для полярных наркотиков, с помощью биотеста на светящихся бактериях были установлены QSAR между биологическим эффектом и свойствами препаратов [3].

Ранее было показано, что гликозидные производные N-ацетилглюкозамина, которые проявляют широкий спектр биологической активности, оказывают влияние на биолюминесценцию светящихся бактерий, выделенных из Черного и Азовского морей [4]. Целью данной работы было установление SAR между действием на бактериальную биолюминесценцию и структурными и физико-химическими свойствами арил-О-β-D-глюкозаминидов.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В работе использовали 28 производных арил-О-β-D-глюкозаминидов (№32 – 60), синтезированных на кафедре органической и биологической химии ТНУ

им. В.И. Вернадского. Синтез и биологические свойства этих соединений были описаны ранее [4].

Для изучения действия этих веществ на биолюминесценцию светящихся бактерий использовали штамм *Photobacterium leiognathi* Sh1, выделенный авторами из Азовского моря и отобранный по чувствительности для биотестирования. В работе использовали 10-минутный биотест на острую токсичность [5] и после введения в пробы питательной среды – 18-часовой тест на хроническую токсичность [6].

Липофильность тестируемых соединений оценивали по ClogP (логарифм коэффициента распределения октанол-вода), который рассчитывали с использованием компьютерных программ ChemOffice и ACD/ChemSketch Freeware, USA. Построение QSAR-моделей осуществляли с помощью Microsoft Office Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении эффекта арил-О-β-D-глюкозаминидов на биолюминесценцию светящихся бактерий было обнаружено разнонаправленное действие, по которому вещества можно разделить на три группы.

Первая группа – глюкозаминиды, подавляющие люминесценцию, хотя бы в одной из исследованных доз, не менее чем на 50%. К этой группе отнесены арилгликозиды 40, 44, 45, 48-50, 52, 54, 55, 58-60 [4], характеризующиеся наличием таких функциональных групп, как: =CH<sub>2</sub>, галоген- и дигалоген-производные, нитрогруппа, карбонильная и метоксикарбонильная группы, а также полицикличность.

Для наиболее сильных ингибиторов, которые подавляли биолюминесценцию на 80 и более процентов, в тестах на острую и хроническую токсичность, наблюдалась взаимосвязь между биологическим действием и их липофильностью, Таблица 1. Корреляция между значениями ЭК<sub>50</sub> в 10-мин тесте на светящихся бактериях и соответствующими значениями ClogP составляла -0,819, что свидетельствует о более высокой токсичности соединений с большей липофильностью. Аналогичной зависимости между физико-химическим свойством и хронической токсичностью не наблюдалось.

На основании полученных данных построена простейшая QSAR-модель, связывающая биологический эффект и липофильность (рис. 1), которую можно представить уравнением

$$ЭК_{50} = -0,1042ClogP + 0,228,$$

с достоверностью аппроксимации R<sup>2</sup>=0,671.

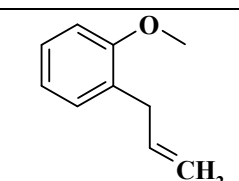
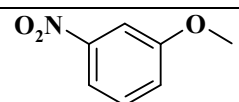
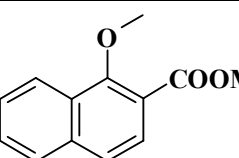
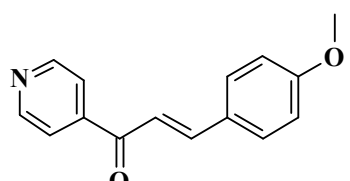
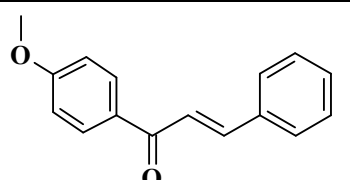
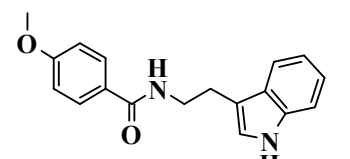
Во вторую группу были отнесены производные 35, 38, 43, 46, 61, не оказывающие существенного влияния на бактериальную люминесценцию. Третью группу составили гликозиды, преимущественно активирующие люминесценцию – 32-34, 36, 37, 39, 41, 42, 47, 51, 53, 56, 57 [4].

Анализ физико-химических свойств и структуры этих веществ выявил некоторые дополнительные закономерности. Для галогензамещенных арилгликозидов 41-45 действие на светящиеся бактерии являлось функцией липофильности. Менее липофильные монохлорпроизводных 41, 42 (ClogP 1,07)



активировали биолюминесценцию и рост бактерий, *p*-бромпроизводное 43 (ClogP 1,46) практически не влияло на бактериальный рост, но ингибировало биолюминесценцию, а более липофильные производные *p*-иодфенилгликозид 44 (ClogP 1,72) и 2,4-дихлорфенилгликозид 45 (ClogP 1,84) оказывали ингибирующее действие на рост бактерий, но не обладали острым действием (табл. 2).

**Таблица 1**  
**Свойства и токсичность арил-*O*- $\beta$ -D-гликозаминидов-ингибиторов**  
**бактериальной люминесценции**

№	Структура радикала R	Острая токсичность, ЭК <sub>50</sub>	Хроническая токсичность, ЭК <sub>50</sub>	ClogP
40		0,03	0,44	1,53
48		0,15	0,18	0,5
54		0,02	0,09	1,61
58		0,21	0,01	0,83
59		0,03	0,02	2,24
60		0,08	0,20	1,47

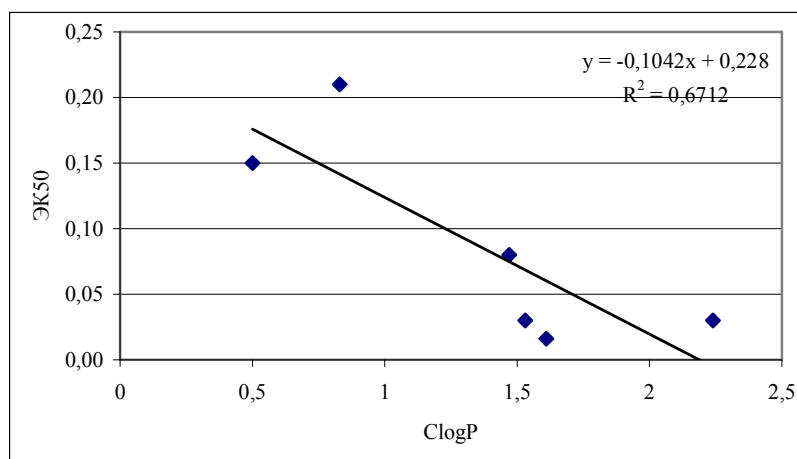


Рис. 1. Зависимость между ЭК<sub>50</sub> и Clog P для глюкозаминидов – ингибиторов бактериальной люминесценции.

Для этой группы производных QSAR-модели были построены по параметрам, характеризующим биолюминесценцию в присутствии вещества, и ClogP (рис. 2). Так, для значений биолюминесценции при концентрации вещества 0,5 мг/мл, зависимость имеет вид

$$I\% = -311,06ClogP + 568,23 \quad (R^2 = 0,965).$$

При использовании интегрального показателя свечения, который определяли, как площадь под графической зависимостью биолюминесценции от концентрации, QSAR выражалась уравнением

$$I = -103,14ClogP + 203,22 \quad (R^2 = 0,829).$$

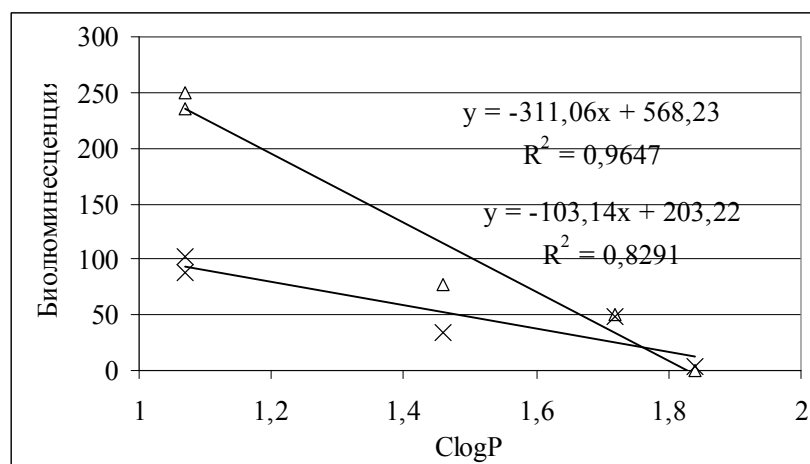
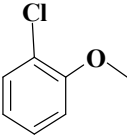
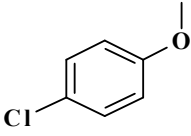
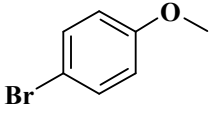
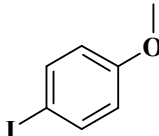
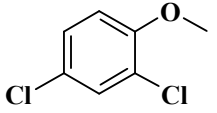
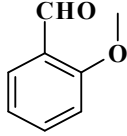
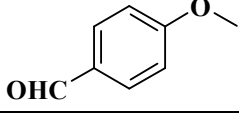
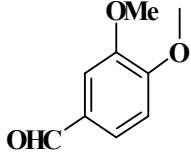


Рис. 2. Корреляция между биолюминесценцией *P. leiognathi* Sh1 в присутствии арилглюкозидов и их липофильностью.

Таблица 2.

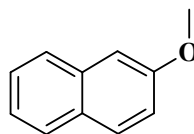
Структура и свойства замещенных арилгликозидов

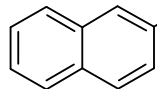
№	Структура радикала R	ClogP	Влияние на биолюминесценцию	Биолюминесценция при 0,5 мг/мл	Площадь под кривой ингибирования
41		1,07	А	250	88,54
42		1,07	А	236	102,84
43		1,46	НВ	78	33,78
44		1,72	И	50	49,18
45		1,84	СИ	0	3,27
Корреляция ClogP				-0,982	-0,911
49		0,17	И	22,2	24,17
50		0,17	И	22,0	22,43
51		-0,16	А	493,5	191,78
Корреляция ClogP				-1	-0,999

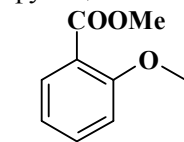
В группе формилфенилгликозидов 49-51 ингибиторами роста и люминесценции также являются производные с большей липофильностью (49, 50, ClogP 0,17), тогда как положение формильной группы в ароматическом ядре не определяет бактерицидную активность (табл. 1).


Для гликозидов халконов отмечено усиление ингибирующего эффекта у *para*-производных (соединения 58, 59 и 60 [4]), в то время как для *o*-замещенных соединений характерны меньший эффект, его отсутствие или активирующее действие на свечение бактерий. При этом липофильность соединений не значительно влияла на их биологическую активность.

В ряду нафтилгликозидов (32, 33, 54 [4]) при одинаковой липофильности, ингибирующей активностью обладает только гликозид 54 (табл. 1), что, по-видимому, связано с наличием 2-метоксикарбонильной группы, поскольку его



ближайший структурный аналог 33 (R - ) , не содержащий этой функциональной группы, является активатором роста бактерий, а соединение 52 (R



- ) с той же метоксикарбонильной группой ингибирует рост бактерий.

### ВЫВОДЫ

1. Выявлено три типа биологического эффекта арил-О-β-D-глюкозаминидов на биолюминесценцию светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1.
2. Установлено, что ингибирование бактериальной биолюминесценции вызывают соединения, которые являются галоген- и дигалоген-производными, содержат функциональные =CH<sub>2</sub>, нитро-, карбонильную, метоксикарбонильную группы или обладают полициклическостью.
3. Показано, что ингибирование бактериальной биолюминесценции определяется липофильностью соединений с корреляцией 0,82. Построены простейшие QSAR-модели, описывающие биологический эффект арил-О-β-D-глюкозаминидов, в зависимости ClogP.

### Список литературы

1. Bioluminescent bacteria as indicators of chemical contamination of coastal waters / M. E. Frischer, J. M. Danforth, T. F. Foy [et al.] // J. Environ. Qual. – 2005. – Vol. 34, № 4. – P. 1328–1336.
2. Кацев А. М. Біолюмінесцентний підхід з використанням бактерій, що світяться, для проведення фармацевтичного аналізу / А. М. Кацев // Фармацевтичний часопис. – 2008. – №1(5). – С. 50–53.
3. Toxicity assessment of atrazine and related triazine compounds in the microtox assay, and computational modeling for their structure–activity relationship / P.B. Tchounwou, B. Wilson, A. Ishaque [et al.] // Intern. J. Mol. Sci. – 2000. – Vol. 1. – P. 63–74.

4. Синтез арил-О-β-D-глюкозаминидов и оценка их биологической активности в тесте ингибирования биолюминесценции морских светящихся бактерий / В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, А.М. Кацев, В.Я. Чирва // Журнал орг. та фарм. хімії. – 2009. – Т. 7, вып. 4(28). – С. 30–40.
5. Farré M. Assessment of the acute toxicity of triclosan and methyl triclosan in wastewater based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri* / M. Farré, D. Asperger, L. Kantiani // Anal. Bioanal. Chem. – 2008. – Vol. 390, №8. – P. 1999–2007.
6. Gellert G. Sensitivity and Significance of Luminescent Bacteria in Chronic Toxicity Testing Based on Growth and Bioluminescence / Georg Gellert // Ecotoxicology and Environmental Safety – 2000. – Vol. 45, № 1. – P. 87–91.

**Кацев А.М. Встановлення деяких залежностей структура-активність (SAR) для похідних арил-О-β-D-глюкозамінідов з використанням біотесту на світних бактеріях / А.М. Кацев, В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, В.Я. Чирва // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 143-149.**

З використанням біотесту на морських бактеріях, що світяться, виявлена біологічна дія нових похідних Арил-О-β-D-глюкозамінідов. Показано, що ефект інгібування бактерійної люмінесценції пов'язаний з певними функціональними групами, а також залежить від ліпофільності речовин. Побудовані QSAR-моделі залежності біологічного ефекту від CLOGP.

**Ключові слова:** : біолюмінесценція, бактерії, що світяться, біотест, QSAR.

**Katsev A.M. Structure-activity relationship for aryl-O-β-D-glucosaminides studied by luminescent bacteria biotesting / A.M. Katsev, V.O. Kuruanov, T.A. Chupakhina, V.Ya. Chirva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 143-149.**

The biological action of new derivatives of aryl-O-β-D-glucosaminides is studied by luminescent bacteria biotesting. It is shown that inhibition effect of bacterial luminescence is related to the certain functional groups, and depends on lipophilicity of substances. The QSAR-models of dependence between biological effect and ClogP values are present.

**Keywords:** bioluminescence, luminescent bacteria, biotesting, QSAR.

*Поступила в редакцію 19.05.2011 г.*

**УДК 612.82 612.13**

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА**

*Кириллова А.В.<sup>1</sup>, Панова С.А.<sup>1</sup>, Лесова Л.Д.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*Университет культуры и туризма, Симферополь, Украина*

*E-mail: timur328@gmail.com*

Исследованы действия эфирных масел лаванды, шалфея, сосны и лимона. Показаны изменения показателей основных ритмов ЭЭГ и психофизиологического состояния человека при действии эфирных масел.

**Ключевые слова:** эфирные масла, лаванда, шалфей, лимон, сосна, ЭЭГ, тесты.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Среди многих факторов, влияющих на центральную нервную деятельность человека, привлекает группа веществ растительного происхождения, объединенных общим названием «Эфирные масла». Согласно литературным данным [1–4] эти вещества, благодаря своему уникальному составу, способны воздействовать как на отдельные органы и системы, так и на весь организм в целом. В частности эфирные масла могут изменять ритм дыхания, сосудистый тонус, проявлять иммуностимулирующую активность. Кроме того, вдыхание эфирных масел улучшает эмоциональный фон человека, повышает интерес к жизни. По мнению Вента, эфирные масла это «атмовитамины», катализаторы биохимических процессов организма, «элексир жизни» [3].

Все это обуславливает актуальность изучения влияния эфирных масел на функции центральной нервной системы человека. Эффективным инструментом изучения состояния и деятельности центральной нервной системы является электроэнцефалография [1, 5, 6]. На основании электроэнцефалограммы можно оценить общее состояние центральной нервной системы человека, его изменения при воздействии акустических, визуальных, ароматических факторов, диагностировать заболевания на ранних стадиях развития.

Одно из проявлений деятельности центральной нервной системы – психологический статус человека, разные стороны которого раскрываются в системе психологических тестов [7].

В связи с этим целью настоящей работы является сравнительная оценка влияния эфирных масел на энцефалографические показатели активности головного мозга и психологическое состояние человека.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте принимали участие 70 испытуемых обоего пола в возрасте от 18 до 25 лет. Все испытуемые привлекались к участию в четырех опытах, в каждом из которых предлагались для вдыхания через аромаингалятор эфирные масла сосны, лимона, лаванды и шалфея. В каждой серии проводили психологическое тестирование испытуемых с помощью тестов Спилбергера (определение уровня тревожности) и САН (оценивали основные характеристики функционального состояния самочувствия, активности и настроения, а также степени утомления) и регистрировали электроэнцефалограмму.

Эксперимент состоял из следующих этапов:

1. психологическое тестирование;
2. запись фоновой ЭЭГ;
3. запись ЭЭГ в период воздействия эфирным маслом;
4. запись ЭЭГ после воздействия эфирным маслом;
5. психологическое тестирование после воздействия эфирным маслом.

Длительность каждого этапа составляло 4-5 минут. Длительность каждого эксперимента в среднем составляла 20-22 минуты.

Отведение и регистрацию ЭЭГ проводили с помощью автоматизированного комплекса на база IBM PS и электроэнцефалографа BST1 с использованием программы «Polygraf». Electroды для отведения ЭЭГ располагались в точках С3 и С4 (по международной системе 10-20), что соответствует проекции на центральную область ассоциативной коры. Анализировались отрезки ЭЭГ длительностью 2,56 с, которые отводились каждые 15 с. Для обработки были выделены 5 спектральных полос: 1-4, 4-8, 8-14, 14-30 Гц, частотный диапазон которых соответствовал дельта-, тета-, альфа- и бета-ритмам. Анализировали амплитуду спектра ЭЭГ в каждой частотной полосе. Значение показателей спектра рассчитывали для каждого отрезка ЭЭГ и для каждого полушария в отдельности. Анализировали отрезок из 256 значений, что соответствует спектральной полосе от 0 до 30 Гц.

Данные электроэнцефалографии и психологических тестов обрабатывались статистически как попарно связанные для каждого испытуемого варианты с использованием z-критерий знаков и разностного t-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о влиянии эфирных масел на электроэнцефалограмму (ЭЭГ) человека представлены на Таблицах 1-4. Для достоверности различий были использован t-критерий Стьюдента.

В период вдыхания паров эфирного масла лаванды наблюдается увеличение амплитуды дельта и бета ритмов в обоих полушариях головного мозга. В момент воздействия эфирным маслом шалфея у испытуемых подтверждается только понижение амплитуды тета-ритма (достоверно в правом полушарии и на уровне тенденции – в левом). Кроме того выявлено увеличение амплитуды бета-ритма в обоих полушариях после окончания воздействия эфирным маслом, а также тенденция к усилению этого ритма и ослаблению альфа-ритма в правом полушарии в момент воздействия.

Таблица 1.

## Изменение амплитуды ЭЭГ при воздействии эфирным маслом лаванда

Ритм	До воздействия	Воздействие	После воздействия
Левое полушарие			
$\delta$	1,05±0,19	1,19±0,20*	1,11±0,22
$\theta$	0,92±0,14	1,02±0,18	1,06±0,20
$\alpha$	0,90±0,07	0,88±0,07	0,92±0,10
$\beta$	0,43±0,08	0,50±0,09*	0,46±0,09
Правое полушарие			
$\delta$	0,78±0,06	0,92±0,07*	0,83±0,06
$\theta$	0,75±0,08	0,74±0,09	0,78±0,11
$\alpha$	0,81±0,08	0,78±0,08	0,83±0,10
$\beta$	0,32±0,08	0,39±0,08*	0,38±0,08

Примечание: \*достоверность различий амплитуды ритмов ЭЭГ до и во время воздействия эфирным маслом лаванда при  $p < 0,05$

В момент воздействия эфирным маслом шалфея (табл. 2) у испытуемых по z-критерию знаков подтверждается только понижение амплитуды тета-ритма (достоверно в правом полушарии и на уровне тенденции – в левом). Дополнительным свидетельством в пользу этого эффекта служит выявленная с помощью разностного t-критерия Стьюдента тенденция к снижению амплитуды этого ритма в обоих полушариях головного мозга. Кроме того, с помощью разностного t-критерия Стьюдента выявлены достоверное увеличение амплитуды бета-ритма в обоих полушариях после окончания воздействия эфирного масла шалфея, а также тенденция к усилению этого ритма и к ослаблению альфа-ритма в правом полушарии в момент воздействия шалфея.

Таблица 2

## Изменение амплитуды ЭЭГ при воздействии эфирным маслом шалфея

Ритм	До воздействия	Воздействие	После воздействия
Левое полушарие			
$\delta$	1,87±0,17	1,83±0,18	1,93±0,19
$\theta$	2,37±0,21	2,32±0,19*	2,35±0,21
$\alpha$	2,30±0,30	2,26±0,32	2,30±0,33
$\beta$	0,78±0,09	0,99±0,18	0,85±0,10
Правое полушарие			
$\delta$	2,10±0,19	2,01±0,20	1,96±0,17
$\theta$	2,25±0,33	2,17±0,37**	2,15±0,33
$\alpha$	2,24±0,31	2,17±0,30	2,20±0,31
$\beta$	0,70±0,07	0,87±0,13	0,75±0,07

Примечание: \*достоверность различий амплитуды ритмов ЭЭГ до и во время воздействия эфирным маслом шалфея при  $p < 0,01$  и \*\* при  $p < 0,05$



## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ...

При воздействии на испытуемых эфирного масла сосны основные изменения наступают после воздействия (табл. 3). В момент воздействия наблюдается только достоверное ослабление альфа-ритма в правом полушарии. После воздействия в обоих полушариях достоверно уменьшается амплитуда альфа-, дельта- и тета-ритмов. При этом в левом полушарии амплитуда альфа- и дельта- ритмов уменьшается в сравнении, как с исходным их значением, так и с моментом воздействия, тета-ритма – только с момента воздействия. В правом полушарии амплитуды всех указанных ритмов достоверно уменьшаются в сравнении с их исходным значением, а дельта-ритма - с момента воздействия.

**Таблица 3**  
**Изменение амплитуды ЭЭГ при воздействии эфирным маслом сосны**

Ритм	До воздействия	Воздействие	После воздействия
Левое полушарие			
δ	4,09±0,27	4,12±0,30	3,89±0,26 **
θ	2,67±0,23	2,62±0,21	2,58±0,19 * *
α	3,03±0,21	2,96±0,24	2,83±0,24* *
β	1,26±0,08	1,35±0,12	1,32±0,11
Правое полушарие			
δ	4,53±0,26	4,49±0,29	4,25±0,26 **
θ	2,89±0,22	2,79±0,20	2,79±0,20 *
α	3,31±0,24	3,15±0,23*	3,06±0,23 **
β	1,28±0,08	1,38±0,11	1,37±0,11

*Примечание:* \*достоверность различий амплитуды ритмов ЭЭГ при  $p < 0,05$  и \*\* при  $p < 0,01$

Эфирное масло лимона оказалось менее активным, чем описанные выше масла в отношении влияния на ЭЭГ испытуемых (табл. 4). Достоверным оказалось только снижение в обоих полушариях амплитуды бета-ритма после воздействия в сравнении с моментом воздействия.

**Таблица 4**  
**Изменение амплитуды ЭЭГ при воздействии эфирным маслом лимона**

Ритм	До воздействия	Воздействие	После воздействия
Левое полушарие			
δ	3,52±0,21	3,61±0,22	3,63±0,24
θ	2,27±0,20	2,30±0,20	2,24±0,17
α	2,50±0,22	2,56±0,22	2,52±0,21
β	1,08±0,07	1,22±0,11	1,09±0,08*
Правое полушарие			
δ	4,00±0,20	4,16±0,13	4,10±0,22
θ	2,62±0,18	2,59±0,18	2,54±0,15
α	2,96±0,21	2,97±0,22	2,86±0,19
β	1,18±0,07	1,30±0,11	1,18±0,08 *

*Примечание:* \*достоверность различий амплитуды ритмов ЭЭГ при  $p < 0,05$

Таким образом, эфирные масла по влиянию на ЭЭГ разделились на два типа: масла вызывающие изменения ЭЭГ преимущественно во время воздействия (лаванда, шалфея, лимона), и вызывающие изменения после прекращения воздействия (сосны).

Данные о влиянии эфирных масел на психологический статус человека приведены в Таблицах 5 и 6. В этих таблицах отражены изменения ситуативной и личностной тревожности испытуемых (тест Спилбергера), а также их самочувствия, уровня активности и настроения (тест САН) с оценкой достоверности этих изменений.

Из Таблицы 5 видно, что на психологический статус испытуемых наибольшее действие оказали эфирные масла лаванды и шалфея. Вдыхание их паров привело к достоверному уменьшению как ситуативной, так и личностной тревожности. Эфирное масло сосны практически не повлияло на психологический статус испытуемых.

**Таблица 5**  
**Изменение показателей ситуативной и личностной тревожности испытуемых при воздействии эфирных масел**

Эфирное масло	Ситуативная тревожность		Личностная тревожность	
	До возд.	После возд.	До возд.	После возд.
Лаванда	35,1±1,6	30,8±1,0 *	36,2±1,4	31,7±1,1 *
Шалфей	39,2±1,0	33,7±2,4 *	41,3±1,4	36,2±2,2 *
Сосна	29,6±1,2	29,2±1,2	30,9±1,4	31,1±1,3
Лимон	29,7±1,0	30,1±0,8	32,2±1,4	30,8±1,2 **

*Примечание:* \*достоверность различий ситуативной и личностной тревожности при  $p < 0,01$  \*\* и при  $p < 0,05$

С помощью теста САН показано (табл. 6), что эфирное масло лаванды оказало комплексное положительное влияние на испытуемых и по показателям самочувствия, активности и настроения, достоверно улучшив их. Эфирное масло шалфея улучшило только самочувствие, не повлияв на настроение и активность. Определенную активность проявило масло сосны, улучшив настроение испытуемых. Эфирное масло лимона практически не изменило эти показатели.

**Таблица 6**  
**Изменение показателей самочувствия, активности и настроения при воздействии эфирных масел**

Эфирное масло	Самочувствие		Активность		Настроение	
	До возд.	После возд.	До возд.	После возд.	До возд.	После возд.
Лаванда	4,27±0,24	4,98±0,24*	4,87±0,25	5,50±0,21**	4,65±0,26	5,10±0,30*
Шалфей	4,42±0,26	4,73±0,21**	4,71±0,27	5,00±0,19	4,59±0,21	5,00±0,17
Сосна	4,95±0,24	4,94±0,14	5,55±0,18	5,74±0,16	5,38±0,19	5,79±0,20**
Лимон	4,80±0,18	5,03±0,18	5,42±0,17	5,59±0,20	5,59±0,16	5,73±0,17

*Примечание:* \* достоверность различий показателей самочувствия, активности и настроения при действии эфирных масел при  $p < 0,01$ ; \*\* и при  $p < 0,05$

Таким образом, результаты исследования показывают, что эфирные масла лаванды и шалфея вызывают изменения электроэнцефалограммы преимущественно в момент вдыхания их паров. Последствия в виде изменений электроэнцефалограммы по сравнению с исходным состоянием после прекращения вдыхания паров у этих эфирных масел практически не наблюдается. В тоже время, каждое из этих масел порождает свою картину изменений ЭЭГ. При действии эфирного масла лаванды наблюдается активация бета- и дельта-ритмов, эфирное масло шалфея - активация бета- и угнетение тета-ритма.

Именно эти масла оказали выраженное влияние на психологический статус испытуемых, причем это проявилось после прекращения воздействия эфирного масла. При действии эфирного масла лаванды и шалфея уменьшились ситуационная и личностная тревожность испытуемых, они отмечали улучшения самочувствия. При действии эфирного масла лаванды, кроме того, улучшились показатели активности и настроения.

Эфирное масло сосны в момент воздействия практически не повлияло на ЭЭГ. Отмечено лишь ослабление альфа-ритма в правом полушарии. Зато после прекращения воздействия возникли очень выраженные изменения ЭЭГ в виде угнетения альфа-, дельта- и тета-ритмов в обоих полушариях головного мозга. Тестирование в этот период выраженных изменений ЭЭГ психологического статуса испытуемых не выявило сколь-нибудь значительных сдвигов. Наблюдался лишь некоторый рост показателя настроения по тесту САН.

Эфирное масло лимона практически не влияет на ЭЭГ. Есть лишь косвенные признаки некоторой активации бета-ритма в момент воздействия. На психологический статус испытуемых эфирное масло лимона практически не повлияло. Отмечено лишь некоторое уменьшение показателя личностной тревожности.

Подводя итоги экспериментального исследования влияния эфирных масел на центральную нервную систему, следует отметить их достоверное положительное влияние не только на психологический статус человека, но и на физиологическое состояние. Таким образом, эфирные масла сосны, лаванды и шалфея являются перспективными для коррекции психоэмоционального состояния человека, а возможность использовать для этих целей эфирное масло лимона представляется сомнительным.

## **ВЫВОДЫ**

1. Эфирные масла лаванды и шалфея вызывают изменения электроэнцефалограммы преимущественно в момент вдыхания их паров, сосны – после прекращения воздействия. Эфирное масло лимона не вызывает достоверных изменений электроэнцефалограммы.
2. Выраженные изменения психологического статуса испытуемых, определяемого после прекращения воздействия, вызвали эфирные масла лаванды и шалфея. Эфирные масла сосны и лимона слабо подействовали на него.
3. В момент воздействия эфирным маслом лаванды на электроэнцефалограмме наблюдается активация бета- и дельта-ритмов, шалфея – активация бета- и

угнетение тета-ритма. После прекращения воздействия эфирным маслом сосны уменьшается амплитуда альфа-, дельта- и тета-ритмов в обоих полушариях головного мозга.

4. Эфирные масла лаванды и шалфея уменьшили ситуационную и личностную тревожность и улучшили самочувствие испытуемых. Эфирное масло лаванды, кроме того, повысило их активность и улучшило настроение.
5. Эфирное масло сосны вызвало только улучшение настроение испытуемых, лимона – уменьшило их личностную тревожность.

#### Список литературы

1. Егорова И.С. ЭЭГ/ И.С. Егорова.- М.: Медицина, 1973.- С.33-43.
2. Козлов Ю.П. Ароматы управляют поведением / Ю.П. Козлов // Экология и жизнь.- 1998.-№2. – С.135
3. Нагорная Н.В. Ароматерапия в педиатрии / Н.В. Нагорная.- Cosmetic Karl Hadek International, 1998. – С. 342.
4. Николаевский В.В. Ароматерапия / В.В. Николаевский // Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье.- Симферополь, 1999.- С.787-792.
5. Жадин М.Н. Биофизические механизмы формирования ЭЭГ / М.Н. Жадин.- М., 1984. – 342 с.
6. Общий курс физиологии человека и животных: учеб. для биол. и медич. спец. Вузов / [Ноздрачев А.Д., Баранникова И.А., Батуев А.С. и др.].- М.: высшая школа, 1991.- 512 с.
7. Основы психологии: практикум /ред.-сост. Л.Д. Столяренко.- Ростов н/Д: Феникс, 2002.- 704 с.

**Кириллова А.В. Порівняльна оцінка впливу ефірних олій на психофізіологічний статус людини / А.В. Кириллова, А.С. Панова, Л.Д. Лесова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 150-156.**

Досліджені дії ефірних олій лаванди, шавлії, сосни і лимона. Показані зміни показників основних ритмів ЕЕГ і психофізіологічного стану людини при дії ефірних олій.

**Ключові слова:** ефірні олії, лаванда, шавлія, лимон, сосна, ЕЕГ, тести.

**Kirillova A.V. Comparative estimation of influence of essential oils on психофизиологический статус of man/ A.V. Kirillova, S.A. Panova, L.D. Lesova, // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 150-156.**

The actions of essential oils of lavender, clary, pine-tree and lemon are investigational. The changes of indexes of basic rhythms are shown EEG and the психофизиологического state of man at the action of essential oils.

**Keywords:** essential oils, lavender, clary, lemon, pine-tree, EEG, tests.

*Поступила в редакцию 17.05.2011 г.*

**УДК 617-089.843:611-013**

## **АКТИВНІСТЬ МУЛЬТИЕНЗИМНИХ ПІРУВАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО І $\alpha$ -КЕТОГЛУТАРАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСІВ ЗА УМОВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ**

*Кобильник С.М., Кулібаба О.В., Янчукова А.О., Петров С.А.*

*Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова, Одеса, Україна  
E-mail: snijana.kobylnik@mail.ru*

Алотрансплантація призводить до збільшення активності  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази, піруватдегідрогенази і окислення ендogenous субстратів як в черевній, так і в стегновій м'язових тканинах.

**Ключові слова:** алотрансплантація,  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази, піруватдегідрогеназа, ендogenous субстрати.

### **ВСТУП**

Протягом останніх років вчені багатьох країн світу зацікавлені у вивченні та застосуванні алотрансплантації ембріональних тканин.

З числа невирішених питань, що мають медико - біологічне значення, ключовими видаються питання про характер взаємодії пересащеної ембріональної тканини з тканиною реципієнта, а також і про умови функціонування трансплантата.[1, 2]. Тому метою нашої роботи було вивчення активності окислення ендogenous субстратів,  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази і піруватдегідрогенази при алотрансплантації ембріональних тканин.

### **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Дослідження проводили на 120 статевозрілих білих безпородних щурах (самцях і самках), масою 180-350 гр. відповідно до Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних цілей.

Хірургічні втручання проводили в умовах загальних правил септики. Операційне поле обривалося і оброблялося розчином йодобака. Для отримання ембріонів вирощували самиць зі строком вагітності 3-4 тижні. З ембріональної тканини витягалась черевна м'язова тканина і підшивалась в черевну дорослого щура. Аналогічна процедура проводилась і з стегною м'язовою тканиною. Операційну рану зашивають наглухо, простим вузловим швом. Накладалася асептична пов'язка. [3]. Самцям проводили алотрансплантацію черевної м'язової і

стегнової м'язової тканини під ефірним наркозом. Виводили щурів з експерименту шляхом пропускання струму через довгастих мозок.

Активність досліджуваних дегідрогеназ визначали за методом Габлера в модифікації Кісслінга і Лунджвіста. Статистичну обробку результатів виконували за методом Стьюдента [4–6].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Морфологічна характеристика вільно алотрансплантованих ембріональних тканин. Внаслідок трансплантації ембріональних тканин в організмі реципієнта виникає реакція на трансплантат, однак вона маловиражена й перебігає дуже повільно. Імунна реакція на трансплантацію ембріональних тканин не має характерних ознак реакції відторгнення трансплантата, інтенсивність її не залежить від виду пересащеної тканини, морфологічними проявами її є лімфоїдна інфільтрація пересащеної тканини з повнокрів'ям судин.[1, 2]

Отримані нами результати наведені на таблицях 1, 2, 3. На першу добу після алотрансплантації черевної м'язової тканини окислення  $\alpha$ -кетоглутарату було однаковим як в тканині трансплантата, так і в дорослій тканині. На 3-ю добу активність  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази збільшувалася в рівній мірі в алотрансплантаті та дорослій тканині. На сьому добу процеси окислення в дорослій тканині відбувалися інтенсивніше, ніж в ембріональній. По відношенню до контролю протягом семи діб відзначалося підвищення окислення як в ембріональній, так і в дорослій тканині, за винятком першої доби, де спостерігалось у дорослій тканині незначне зменшення окислювальних процесів. При алотрансплантації стегнової м'язової тканини на першу добу ми спостерігали аналогічні закономірності такі, які спостерігалися в черевній м'язовій тканині. На третю добу процес окислення посилювався в більшій мірі в зрілій тканині, ніж в ембріональній. На сьому добу окислення  $\alpha$ -кетоглутарата було однаково інтенсивним в обох досліджуваних тканинах (табл.1) [7].

**Таблиця 1.**

**Окислення  $\alpha$  – кетоглутарату (нмоль ферриціаніду/г тканини)**

	контроль	1 доба	3 доба	7 доба
Ембріональний стегновий м'яз	70±10	50±10	50±10	90±10
Стегновий м'яз дорослої тварини	20±10	50±10	60±8	80±5
Ембріональний черевний м'яз	40±10	50±10	60±20	60±10
Черевний м'яз дорослої тварини	60±10	50±10	60±20	70±50

*Примітка:* \* –  $p < 0,05$  – достовірно

При використанні пірувату, як в ембріональній черевній м'язовій тканині, так і в стегновій м'язовій ми спостерігали, що цей субстрат окислявся у двічі інтенсивніше, ніж у дорослій, за винятком черевної м'язової тканини на третю добу, а стегнової м'язової тканини і на першу добу. По відношенню до контролю окислення цього субстрату на сьому добу вдвічі зростала і в черевній м'язовій, і в стегновій м'язовій тканинах (табл. 2).

**Таблиця 2.**

**Окислення пірувату (нмоль ферриціаніду/г тканини)**

	контроль	1 доба	3 доба	7 доба
Ембріональний стегновий м'яз	90±50	50±10	80±10	80±10
Стегновий м'яз дорослої тварини	50±30	40±20	60±10	60±10
Ембріональний черевний м'яз	30±10	60±10	30±10	70±20
Черевний м'яз дорослої тварини	60±20	40±10	50±10	90±20

*Примітка:* \* -  $p < 0,05$  – достовірно

При дослідженні окислення ендогенних субстратів спостерігалось на першу добу зменшення окиснення по відношенню до контролю вдвічі в черевній м'язовій ембріональній і зрілій тканинах. На третю і сьому добу цей показник збільшувався. У стегновому м'язі у всі досліджувані терміни (ембріональної та дорослої тканинах) був практично однаковий. По відношенню до контролю в дорослій м'язовій тканині спостерігалось більш інтенсивне окислення цього субстрату, ніж в ембріональній протягом усього експерименту (табл. 3) [8]

**Таблиця 3.**

**Окислення ендогенних субстратів (нмоль ферриціаніду/г тканини)**

	контроль	1 доба	3 доба	7 доба
Ембріональний стегновий м'яз	60±10	60±10	50±9	60±10
Стегновий м'яз дорослої тварини	20±10	60±10*	60±10*	70±5*
Ембріональний черевний м'яз	80±20	40±10	80±10	70±10
Черевний м'яз дорослої тварини	70±30	40±10	80±10	70±50

*Примітка:* \* -  $p < 0,05$  – достовірно

## **ВИСНОВКИ**

На підставі отриманих даних можна зробити висновок, що алотрансплантація призводить до збільшення активності  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази, піруватдегідрогенази і окислення ендogenous субстратів як в черевній, так і в стегневій м'язових тканинах.

## **Список літератури**

1. Мазур О.Є. Активність ферментів енергетичного обміну ембріональних тренсплантантів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. Наук / Мазур О.Є.-Київ,-2008.-19с.
2. Діагностика життєздатності ембріональних алотрансплантатів // Медична діагностика: Зб. наук. праць. / М.П. Павловський, Ю.І. Мазур, Б.В. Дибас [и др.] - Львів, 1991. - С. 176-177.
3. Буянов В.М. Хирургический шов.- Глава 2 Хирургические швы / Буянов В.М., Егиев В.Н., Удотов О.А. - Санкт-Петербург: 2001.- 112 с.
4. Gabler C. Studies on the physiological function of thiamine / C. Gabler // J. Biol. Chem, 1961.- V.12. – P. 3112-3120.
5. Kiessling K.H. Thiamine diphosphate in grouing tissues/ Kiessling K.H., Lundquist I.I, Exp. Cell. Res. - 1961.-V.26, №1.-p.189-197
6. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика / . Рокицкий П.Ф.- Минск: Вишэйшая школа, 1972.- 318с.
7. Вплив імплантації ембріональної тканини на активність дегідрогеназ ЦТК скелетних м'язів щурів [«Молодь і поступ біології»], збірник тез. наук.- практ. конф., Львів.- 2009.-Т. II.- С. 247.
8. Активність дегідрогеназ ЦТК в тканинах ембріонів щурів: Матер. VIII міжнар. медич. конгр. студ. та молод. Вчених, Тернопіль.- 2009.- С.337.

**Кобильник С.Н. Активность мультиэнзимных пируватдегидрогеназного и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов при условии трансплантации эмбриональной мышечной ткани / С.Н. Кобильник, Е.В. Кулибаба, А.А. Янчукова, С.А. Петров // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 157-160**

Аллотрансплантація приводить к увеличению активности  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы, пируватдегидрогеназы и окисления эндогенных субстратов как в брюшной, так и в бедренной мышечных тканях.

**Ключевые слова:** аллотрансплантация,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа, пируватдегидрогеназа, эндогенные субстраты.

**Kobylnik S.N. Activity multienzyme piruvatdegidrogenase and  $\alpha$ -ketoglutaratedehydrogenase complexes under the condition of transplantation of embryonic muscle / S.N. Kobylnik, E.V. Kulibaba, A.A. Yanchukova, S.A. Petrov // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 157-160.**

Allotransplantation leads to increase activity of  $\alpha$ -ketoglutaratedehydrogenase, pyruvat dehydrogenase and the oxidation of endogenous substrates in the ventral and in the skeletal muscle.

**Keywords:** allotransplantation,  $\alpha$ -ketoglutaratedehydrogenase, pyruvatedehydrogenase, the endogenous substrates.

*Поступила в редакцию 23.04.2011 г.*



**УДК 159.938 : 612.172.2**

## **ОСОБЕННОСТИ КАРДИОИНТЕРВАЛОГРАФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ЛИЦ С ТИПАМИ ПОВЕДЕНИЯ А И Б**

*Конарева И.Н.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: psyphysiol\_lab@ukr.net*

В работе определены индивидуальные показатели variability сердечного ритма у представителей различных типов личности, классифицированных с помощью опросника Дженкинса. Дана характеристика «коронарного» типа А в терминах кардиоинтервалографии, основанная на статистических критериях. Показаны статистические и спектральные различия кардиоинтервалограмм у лиц с типами личности А и Б. Обнаружено, что в пределах указанных типов распределения значений индекса напряжения (по Баевскому) гетерогенны (бимодальны).

**Ключевые слова:** поведение типа А, «коронарный» тип личности, опросник Дженкинса, кардиоинтервалограмма, variability сердечного ритма.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Термин «тип личности А» введен для обозначения лиц, для которых характерна сложная совокупность специфических установок, эмоций и поведенческих стереотипов, обуславливающая сильную мотивацию достижения успеха и контроля над внешними событиями, доминирования и враждебности. Присущие данному типу личностные свойства (нетерпеливость, раздражительность, склонность к соперничеству, амбициозность) являются предикторами высокой вероятности развития сердечно-сосудистых заболеваний [1]. В тип Б обычно включаются лица с поведенческим паттерном, противоположным описанному выше. Естественно, что значительная часть индивидуумов не соответствует полностью указанным паттернам и поэтому классифицируется как промежуточный тип АБ.

В литературе отмечается, что лица типа А по сравнению с лицами типа Б обычно демонстрируют более высокую реактивность сердечно-сосудистой системы. В частности, у них чаще отмечается более высокое систолическое и диастолическое кровяное давление [2], более выражены реакции вазоконстрикции [3], выше частота сердечных сокращений [4]. В связи с этим считают, что поведение типа А связано с устойчивой несколько повышенной активностью симпатoadренальной системы [5], хотя отдельные данные противоречат этой точке зрения: авторы считают лиц типа Б не «релаксированными», а склонными к подавлению тревожных реакций [6].

Следует, однако, признать, что работ, посвященных детальному анализу реактивности сердечно-сосудистой системы у лиц с упомянутыми выше различными типами поведения (в частности, с использованием методики

кардиоинтервалографии), в доступной литературе нам не встретилось. Вместе с тем общепризнано, что исследование variability сердечного ритма (ВСР) может дать достоверную, хотя и опосредованную информацию об особенностях регуляции сердечно-сосудистой системы у конкретного индивидуума. Традиционно в соответствующих работах ограничивались преимущественно регистрацией изменений частоты сердечных сокращений и артериального давления в контексте различных экспериментальных задач. В связи с этим в нашем исследовании мы попытались подробнее определить специфику кардиоинтервалографических показателей, характерную для поведенческих типов А и Б.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В исследовании приняли участие 125 испытуемых-добровольцев в возрасте 18-30 лет с отсутствием сердечно-сосудистой патологии. Психологическое тестирование проводили с помощью опросника Д. Дженкинса (Jenkins Activity Survey, JAS, 1967) в адаптации А.А. Гоштаутаса, что позволяло диагностировать степень выраженности поведения типа А на основании итоговой балльной оценки: до 335 – тип А, от 336 до 459 – промежуточный тип АБ и от 460 баллов и выше – тип Б.

Кардиоинтервалограмму (КИГ) записывали с использованием программы ОРТW (Костенко Н.П., ВНМУ им. Пирогова) во втором стандартном отведении. Определялись стандартные показатели ВСР и их производные индексы (таблица). Продолжительность записи КИГ составляла 5 мин (300 с) в двух условиях – положении сидя и стоя (т.е. при выполнении «усеченной» ортостатической пробы). Математический аппарат исследования включал в себя использование критериев R Спирмена и U Манна-Уитни.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Испытуемые были разделены на три группы на основании количества баллов, набранных при ответах по вопроснику Дженкинса. Поведение типа А было характерно для 25 человек (20.0 % общей выборки; средняя для данной подгруппы оценка 305.8 балла). К типу Б были отнесены 23 человека (18.4 %; 495.0 балла), а к типу АБ – 77 человек (61.6 %; 392.6 балла). Таким образом, результаты тестирования показали, что в исследованной выборке испытуемых преобладал тип АБ. Полученные эмпирические данные особенностей ВСР в подгруппах разных поведенческих типов отображены в таблице.

У представителей «коронарного» типа А по сравнению с лицами других подгрупп были меньшими следующие показатели ВСР: мода кардиоинтервалов (КИ), средняя длительность КИ, минимальный КИ, NN50 (число соседних КИ, которые различаются более чем на 50 мс) и их нормированное значение (pNN50), RMSSD (среднеквадратическое различие между продолжительностью соседних КИ), вариационный размах, мощность высокочастотных (HF) волн и их процентный вклад в общую мощность спектра.

Таблица

## Показатели кардиоинтервалограммы у лиц, относящихся к разным типам

Показатели КИГ	Тип поведения		
	Тип А, n = 25	Тип АБ, n = 77	Тип Б, n = 23
<i>Статистические показатели</i>			
Мода, <i>Mo</i> (с)	0,718	0,749	0,754
Амплитуда моды, <i>AMo</i> (%)	43,680	38,649	35,522
Средн. знач. R-R-интервала, <i>NNm</i> (с)	0,740	0,763	0,782
Максим. R-R-интервал, <i>Max</i> (с)	0,949	0,933	0,974
Миним. R-R-интервал, <i>Min</i> (с)	0,606	0,631	0,623
Разность (Max-Min), <i>Delta</i> (с)	0,340	0,301	0,351
<i>NN50</i>	51,880	63,792	83,478
Отн. количество <i>NN50</i> , <i>pNN50</i> (%)	14,640	17,626	23,297
Дисперсия, <i>Dm</i>	3790,491	3167,442	4198,020
<i>SDNN</i> (мс)	54,167	53,151	61,231
Коэффициент вариации, <i>Svar</i> (%)	7,058	6,944	7,785
<i>RMSSD</i> (мс)	38,852	39,357	48,826
Отношение R-Rmax / R-Rmin	1,563	1,489	1,605
Отношение R-R30 / R-R15	1,012	0,988	0,997
<i>Вариационная пульсометрия по Баевскому</i>			
Вариационный размах, <i>BP</i> (с)	0,276	0,292	0,324
Индекс вегетат. равновесия, <i>IBP</i>	186,757	151,904	128,623
Вегетат. показатель ритма, <i>ВПП</i>	5,744	5,199	4,680
Индекс напряжения, <i>ИН</i> (сидя)	138,780	109,740	90,326
Индекс напряжения, <i>ИН</i> (стоя)	188,191	167,187	120,335
<i>Спектральные показатели</i>			
Полная мощность спектра, <i>TP</i> (мс <sup>2</sup> )	6820,179	5576,364	7106,870
Very Low frequency, <i>VLF</i> (мс <sup>2</sup> )	2687,532	2669,188	2818,480
Low Frequency, <i>LF</i> (мс <sup>2</sup> )	2828,276	1678,485	2215,390
Low Frequency, <i>LF</i> (%)	65,200	59,182	57,304
High Frequency, <i>HF</i> (мс <sup>2</sup> )	1233,808	1140,431	1970,728
High Frequency, <i>HF</i> (%)	32,160	37,821	39,970
Отношение <i>LF/HF</i>	2,706	2,336	3,315
<i>Производные показатели</i>			
Индекс централизации, <i>ИЦ</i>	1,519	1,395	1,476
Индекс активности подкорковых нервных центров, <i>ИАПЦ</i>	0,958	0,835	0,937
Показатель адекватности процессов регуляции, <i>ПАПР</i>	63,535	54,671	49,098
Отношение <i>ИН стоя / ИН сидя</i>	1,489	1,717	1,362

Большими значениями показателей ВСР у лиц типа А оказались следующие: амплитуда  $M_0$ , отражающая меру мобилизирующего влияния симпатического отдела автономной нервной системы; отношение КИ 30/15; индекс вегетативного равновесия (ИВР); вегетативный показатель ритма (ВПР); индекс напряжения (ИН) в положении сидя и стоя, мощность среднечастотных волн кардиоинтервалограммы (LF) и их нормированный вклад в общую мощность спектра, а также индекс централизации (ИЦ) и показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР).

Эти же показатели были часто противоположными у лиц типа Б; особенно отличались показатели максимального КИ,  $D_m$ ,  $SDNN$ ,  $Svar$ ,  $VLF$ , отношения  $LF/HF$ , которые были значительно больше чем у лиц других поведенческих типов.

Расчеты критерия U Манна-Уитни показали наличие значимых межгрупповых различий КИГ-показателей у лиц с разными типами поведения. Так, типы А и Б различались по показателям: амплитуда  $M_0$  ( $U=184,0$  при  $\rho=0,033$ ), ИВР ( $U=191,5$  при  $\rho=0,047$ ) и индекса Баевского ( $U=193,5$  при  $\rho=0,050$ ).

Различия описанных выше показателей свидетельствуют об относительном снижении активности парасимпатического контура регуляции у лиц «коронарного» типа и увеличенной активности у них симпатического отдела АНС.

Балльные оценки по шкале Дженкинса отрицательно коррелировали со значениями амплитуды  $M_0$  ( $r=-0,196$  при  $\rho=0,029$ ), относительного вклада LF ( $r=-0,172$  при  $\rho=0,055$ ), соотношения  $LF/HF$  ( $r=-0,183$  при  $\rho=0,041$ ), а также положительно – с нормированной мощностью HF ( $r=0,188$  при  $\rho=0,035$ ). Таким образом, «коронарный» тип личности характеризуется большей амплитудой  $M_0$ , большей относительной мощностью осцилляций низкочастотного диапазона LF и меньшим значением доли мощности высокочастотного диапазона HF.

Недыхательная синусовая аритмия, или LF волны спектра КИГ, обуславливаются влиянием центральных и периферических механизмов. Большинство исследователей согласны с тем, что вариации ритма АД с частотой 0,1 Гц являются следствием генерализованных всплесков симпатической вазомоторной активности, которые возникают с такой же частотой. Относительно генеза генерализованной симпатической активности имеются определенные разногласия. Некоторые авторы считают, что этот ритм навязывается барорецепторными структурами, другие – что он задается специальным центральным осциллятором (нейронными сетями ствола мозга). Существует также гипотеза, что «0,1-герцовый» ритм является следствием ритмичности миогенных реакций артериол, которая, на основе барорефлекторного механизма, обуславливает вариации ЧСС. Возможно также, что в формировании «0,1-герцового» ритма ЧСС принимают участие все три механизма (барорефлекторный, центральный и миогенный). В конечном счете, в практическом аспекте важным является то, что низкочастотные колебания ЧСС напрямую связаны с активностью постганглионарных симпатических волокон, и по спектральной мощности данного компонента КИГ можно судить о состоянии симпатической регуляции сердечного ритма [7]. Считается, что в системе кардиоваскулярного контроля, т.е. в сосудодвигательном центре стволовой ретикулярной формации присутствует центральный вазомоторный генератор, аналогичный дыхательному генератору и способный индуцировать медленные

ритмы разной частоты [8]. Можно предположить, что у лиц типа А подобная активность ретикулярных механизмов повышена.

Высокочастотная составляющая спектра КИГ (HF) формируется «дыхательными» волнами, модулирующими ритм сердца. Дыхательная синусовая аритмия связана в основном с изменением активности блуждающего нерва. По амплитуде моды HF, совпадающей с частотой циклической активности диафрагмального нерва, оценивают меру тонической активности вагуса [8].

Относительно природы HF-волн существует несколько гипотез. Генез этих колебаний связывают с возбуждением рецепторов растяжения легких, работой преганглионарных кардиомоторных вагусных нейронов, артериальных барорецепторов, с изменением газового состава крови и существованием других (недыхательных) модуляций сердечного ритма [7]. Установлено, что высокочастотные вариации сердечного ритма в конечном итоге определяются связью механизмов блуждающего нерва с синусовым узлом и оказываемыми при этом влияниями. Поэтому по значениям спектральной мощности высокочастотного диапазона в основном судят о состоянии парасимпатической регуляции сердечно-сосудистой системы. Таким образом, можно предполагать, что у лиц типа Б активность блуждающего нерва в целом относительно повышена.

Следует также заметить, что амплитуда высокочастотных (дыхательных) волн КИГ при переходе в положение стоя уменьшается (или эти волны полностью исчезают), а амплитуда низкочастотных LF волн увеличивается. Это указывает на существование реципрокных взаимоотношений между высокочастотными и низкочастотными компонентами КИГ. Подобные взаимодействия наблюдаются также между парасимпатическим и симпатическим отделами АНС, определяющими наличие этих волновых колебаний в составе ВСР. Это обстоятельство послужило основанием для использования отношения мощностей низкочастотного и высокочастотного диапазонов спектра (коэффициент LF/HF) для оценки баланса между симпатической и парасимпатической системами [7].

Анализ распределений значений ИН Баевского у представителей групп А, АБ и Б выявил весьма важное, на наш взгляд, обстоятельство. Гистограммы величин ИН и у лиц типа А, и у лиц типа Б демонстрировали отчетливые признаки бимодальности (Рис.). У лиц с поведением типа А (n=25) выделялась мода, соответствующая подгруппе из 16 человек, у которых значения ИН были сравнительно невелики (от 30 до 150 у.е.). У остальных же девяти представителей типа А величины ИН были значительно больше, достигая 400 у.е. Средние значения ИН для данных подгрупп составили 84,8 и 234,7 при том, что балльные оценки, по Дженкинсу, в этих подгруппах существенно не различались (средние 302,8 и 311,3 соответственно).

Картина, наблюдаемая в группе Б (n=23), была в значительной степени сходной. Среди этих лиц четко выделялась подгруппа со значениями ИН менее 60 (n=12, среднее значение ИН 44,2; средняя оценка, по Дженкинсу, 502,9). У остальных же 11 представителей этой группы величины ИН отличались большой дисперсией, у некоторых лиц достигая 200 и более. Однако у всех у них ИН превышал 80 (среднее значение в подгруппе 140,7). Средняя оценка, по Дженкинсу,

у этих лиц (486,5) была лишь ненамного меньше таковой в предыдущей подгруппе.

В отличие от двух рассмотренных выше крайних подгрупп А и Б, лица с промежуточным психолого-поведенческим типом АБ (n=77) демонстрировали унимодальное распределение значений ИН. Оно, правда, отличалось значительной правой асимметрией и высокой дисперсией. Большинство величин ИН на соответствующей гистограмме группировались вокруг моды, соответствующей значениям 50-100, однако у части представителей данной группы встречались величины ИН, превышающие 300-350. Среднегрупповое значение ИН для представителей типа АБ составило 109,7, а средняя оценка, по Дженкинсу, – 392,6.

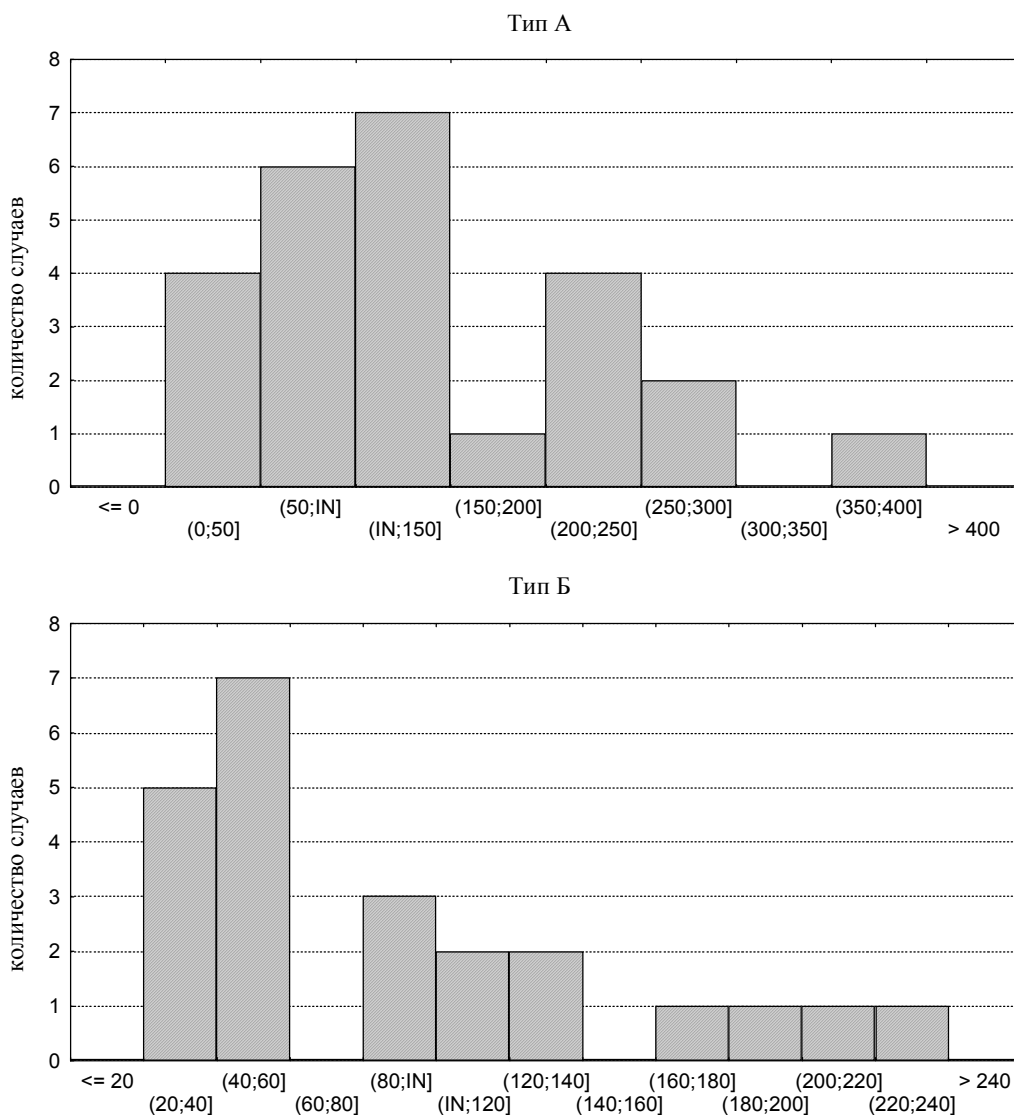


Рис. Распределение значений ИН Баевского у представителей типов А и Б.

Полученные нами данные указывают на неадекватность однозначной интерпретации особенностей регуляции сердечно-сосудистой системы у представителей различных поведенческих типов. Лица, относящиеся к типу А, далеко не всегда демонстрируют отчетливо повышенный тонус симпатического отдела АНС. Соответствующая группа весьма отчетливо распадается на две подгруппы, в одной из которых значения ИН, по Баевскому, относительно невелики (во всяком случае, они не превышают соответствующие величины у большинства представителей промежуточного типа АБ), и лишь у части лиц типа А ИН явно повышен. У лиц типа Б наблюдается достаточно сопоставимая картина. Лишь примерно у половины из них отмечается отчетливое доминирование парасимпатических влияний на ритмику сердца (ИН ниже 60). У другой же части лиц типа Б ИН может быть достаточно высоким. Таким образом, группы лиц с поведением и типа А, и типа Б демонстрируют отчетливую гетерогенность. Очевидно, что вывод о преобладании симпатoadреналового тонуса у индивидуумов типа А и парасимпатического (вагусного) – у типа Б носит лишь относительный характер. Это скорее достаточно выраженная тенденция, но не строгая закономерность. Поэтому при оценке риска сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с поведением типа А желательно более детальное исследование особенностей регуляции сердечно-сосудистой системы, и использование методики КИГ в этих случаях может оказаться весьма полезным.

Лица «коронарного» типа при интенсивной работе обычно не замечают усталости или каких-либо других негативных симптомов. Предполагается, что эти лица недооценивают изменения своего функционального состояния, поскольку они в большей степени обращают внимание на более заметные стимулы, поступающие из окружающей среды, и, следовательно, ослабляют внимание к менее заметным стимулам, поступающим из их внутренней среды (организма). Недооценка неблагоприятного состояния автономной регуляции может быть важным поведенческим фактором в этиологии ишемической болезни сердца.

Повышенная активация симпатoadреналовой системы (признаки чего отмечались многими авторами у представителей типа А, что в целом подтверждают и результаты нашей работы) связана со спецификой психофизиологических показателей (биохимических, физиологических, психологических), которые надо учитывать в комплексе при характеристике данных типов личности.

### **ВЫВОДЫ**

1. Представители «коронарного» типа личности А характеризуются, по данным КИГ, относительным усилением тонуса симпатического отдела АНС.
2. По результатам КИГ можно предположить, что у лиц типа А повышена активность стволовых ретикулярных механизмов, а у лиц типа Б – активность блуждающего нерва.
3. В пределах типов А и Б распределения значений индекса напряжения (по Баевскому) гетерогенны (бимодальны).

Список литературы

1. Rosenman R.H. Modifying type A behavior pattern / R.H. Rosenman, M. Friedman // J. Psychosom. Res. – 1977. – v. 21. – № 4. – P. 323-331.
2. Harbin T.J. The relationship between the type A behavior pattern and physiological responsivity: A quantitative review / T.J. Harbin // Psychophysiology. – 1989. – v. 26. – № 1. – P. 110-119.
3. Pffiffer D., Psychophysiological reactivity in type A and B woman during a rapid information processing task / D. Pffiffer, P. Elsinger, R. Nil, R. Buzzi, K. Bättig // Experientia. – 1986. – v. 42. – № 2. – P. 126-131.
4. Perkins K.A. Heart rate change in type A and type B males as a function of response const and task difficulty / K.A. Perkins // Psychophysiology. – 1984. – v. 21. – № 1. – P. 14-21 (1984).
5. Contrada R.J. Psychophysiological correlates of type A behavior: Comments on Houston (1983) and Holmes (1983) / R.J. Contrada, R.A. Wright, D.C. Glass // J. Res. Pers. – 1985. – v. 19. – № 1. – P. 12-30.
6. Lanfranconi B. Type A behavior and psychophysiological reactivity: A 27-month follow-up / B. Lanfranconi, D. Pffiffer, R. Nil, K. Bättig // Psychophysiology'88: Proc. 4th Conf. Int. Organ. Psychophysiol. (Prague, Sept. 12-17), Prague (1988). – P. 157.
7. Котельников С.А. Вариабельность ритма сердца: представления о механизмах / С.А. Котельников, А.Д. Ноздрачев, М.М. Одинак, Е.Б. Шустов, И.Ю. Коваленко, В.Ю. Давиденко // Физиология человека. – 2002. – Т. 28, № 1. – С. 130-143.
8. Хаспекова Н.Б. Диагностическая информативность мониторингирования вариабельности ритма сердца / Н.Б. Хаспекова // Вестник аритмологии. – 2003. – № 32. – С. 14-23.

**Конарева І.М. Особливості кардіоінтервалографічних показників у осіб з типами поведінки А та Б / І.М. Конарева // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 161-168.**

У роботі визначені індивідуальні показники вариабельності серцевого ритму у представників різних типів особистості, класифікованих згідно з опитувальником Дженкінса. Надано характеристику «коронарного» типа А в термінах кардіоінтервалографії, котра базується на статистичних критеріях. Показані статистичні та спектральні відмінності кардіоінтервалограм у індивідів з типами особистості А та Б. Знайдено, що в межах указаних типів розподіли значень індекса напруги (за Баєвским) є гетерогенними (бімодальними).

**Ключові слова:** «коронарний» тип А, опитувальник Дженкінса, кардіоінтервалографія, вариабельність серцевого ритму, спектри потужності.

**Konareva I.N. Peculiarities of cardiointervalographic induces in persons with behavioral types of A and B / I.N. Konareva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 161-168.**

We measured individual induces of the heart rate variability in representatives of different types of personality classified according to the Jenkins questionnaire. A coronary-prone type A is characterized in the terms of cardiointervalography based on the statistical criteria. Statistical and spectral specificities of cardiointervalograms typical of individuals with the personality types A and B have been demonstrated. As was found, distributions of the values of the stress index (by Bayevskii) within the above types are heterogeneous (bimodal).

**Keywords:** coronary-prone type A, Jenkins questionnaire, cardiointervalography, heart rate variability, power spectra.

*Поступила в редакцію 24.04.2011 г.*



**УДК 594:612.884/615.849.11**

## **НОЦИЦЕПЦИЯ МОЛЛЮСКОВ *HELIX ALBESCENS* ПРИ ЭКРАНИРОВАНИЯ В МЕДНОМ ЭКРАНЕ**

*Костюк А.С.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: timur@crimea.edu*

Исследовано влияние электромагнитного экрана, изготовленного из текстолита, ослабляющего электрическое поле и переменное магнитное поле радиочастот, на параметры ноцицепции моллюсков *Helix albescens*. Обнаружено, что изменения ноцицепции носят фазный характер: I фаза – увеличение ноцицептивной чувствительности на 6,42% (гипералгезия), II фаза – развитие антиноцицептивного эффекта (снижение ноцицептивной чувствительности на 5,90%), III фаза стабилизация параметров ноцицепции на исходном уровне данных. Показано, что пребывание моллюсков в медном экране вызывает лишь тенденцию к изменению инфранианной ритмики параметров ноцицепции.

**Ключевые слова:** ноцицепция, электромагнитное экранирование, инфранианная ритмика, моллюски.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Одной из ясно выраженных тенденций в современной экологической физиологии и биофизики является учет все новых параметров, влияющих на процессы жизнедеятельности. Их число резко увеличилось после того, как в научной обиход вошла концепция о биологической роли микродоз [1]. Эта концепция оказалась плодотворной и для доказательства экологической роли электромагнитных полей (ЭМП) естественного происхождения [2]. Развитию этой концепции должны способствовать не только разнообразные эксперименты с активным воздействием низкоинтенсивных ЭМП, но и исследования эффектов изоляции от них (экранирования). Такие эксперименты проводятся в основном при значительных ослаблениях как статического, так и переменного МП (ПеМП) [3–5], тогда как эффекты слабого электромагнитного экранирования (ЭМЭ) изучены совершенно не достаточно. Кроме того, не определен основной фактор, ответственный за эффекты экранирования.

Показано, что наиболее сенситивной к действию электромагнитных факторов является ноцицептивная чувствительность [6–9], которая рассматривается как способность животных реагировать на стимулы, представляющие угрозу повреждения тканей [10, 11]. Об изменении ноцицепции животных в условиях значительного экранирования сообщается лишь в единичных работах [6]. Ранее нами показано [12], что пребывание животных в ферромагнитном экране (коэффициент экранирования статического МП по вертикальной составляющей равнялся 4,4, а по горизонтальной – 20, коэффициент экранирования ПеМП низких частот – около трех), сопровождается фазными изменениями ноцицепции.

Согласно современным представлениям под влиянием электромагнитных факторов изменяется не только не столько динамика исследуемых показателей, а их ритмическая организация. Показано, что в условиях экранирования изменяется циркадианная ритмика некоторых показателей, тогда как изменения периодических процессов с большей длительностью (многодневные, сезонные ритмы) не изучены.

Для определения основного фактора, ответственного за эффекты экранирования, необходимо проведение экспериментов с применением экранов из различных материалов, ослабляющих МП других диапазонов.

В связи с изложенным целью настоящего исследования было выявление изменений динамики и инфрадианной ритмики ноцицептивной чувствительности моллюсков *Helix albescens* в условиях многодневного пребывания в медном экране.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование изменений ноцицепции в условиях экранирования выполнено на наземных брюхоногих моллюсках *Helix albescens*, широко распространенных на территории Крымского полуострова и применяемых в экспериментах для выявления биологической активности разнообразных экологических факторов. Сбор моллюсков производился в поле, вдали от предприятий, линий электропередач. В эксперименте использовались половозрелые животные, одинаковые по массе и размерам.

О состоянии ноцицепции животных судили по порогу (П) и латентному периоду (ЛП) реакции избегания (РИ) в тесте «горячая пластинка» [13]. Регистрацию показателей РИ проводили у каждого животного ежедневно после очередного воздействия электромагнитного фактора в интервале 11:00–13:00 ч в течение 21 дня.

Для определения влияния экранирования на ноцицепцию моллюсков *Helix albescens* было проведено несколько серий экспериментов. В каждой серии экспериментов животных делили на две равноценные группы по 20 особей в каждой. Моллюски первой группы (контроль) находились в стандартных лабораторных условиях при температуре воздуха  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , высокой влажности и продолжительности фаз свет-темнота (L:D) 1:23 ч. Животных второй группы каждый день помещали на 23 часа в экранирующую камеру на протяжении 21 дня.

Экранирующая камера размерами  $410 \times 260 \times 260$  мм<sup>3</sup> была изготовлена из текстолита толщиной 2 мм. Поверхность текстолита фольгирована электротехнической медью, толщиной 10 мкм. Коэффициент ослабления постоянной составляющей геомагнитного поля, измеренный с помощью феррозондового магнитометра, составил: по вертикальной составляющей 1,5 раза, по горизонтальной – 4 раза. Отличительной особенностью экрана является экранирование электрического поля и ПемП радиочастот.

Измерения проведены совместно с Н.И. Богатиной – кандидатом физико-математических наук, старшим научным сотрудником Физико-технического института низких температур НАН Украины, г. Харьков.

Эффект влияния экранирования на параметры ноцицептивной чувствительности оценивался по коэффициенту его эффективности КЭ [6]. Каждое из измеряемых значений КЭ как в опыте ( $K_o$ ), так и в контроле ( $K_k$ ) являлось результатом усреднения данных измерения на 20 животных:

$$KЭ = \frac{(Kэ - Kк) \pm (\sigmaэ \pm \sigmaк)}{(Kк \pm \sigmaк)} \cdot 100\%$$

где КЭ – коэффициент эффективности, К<sub>э</sub> – параметры ноцицептивной чувствительности в экспериментальной группе, К<sub>к</sub> – параметры ноцицепции в контрольной группе животных, σ<sub>э</sub> и σ<sub>к</sub> – среднеквадратические отклонения измерений в опыте и контроле соответственно.

В качестве основного метода анализа продолжительности периодов и амплитудно-фазных характеристик исследуемых показателей в настоящем исследовании использовали быстрое преобразование Фурье, обеспечивающее разложение временного ряда на конечное число элементарных периодических компонент, и программу косинор-анализа (решение систем линейных уравнений методом Крамера), дающие полное представление о структуре физиологических ритмов [14].

Статистическую обработку и анализ материала проводили с помощью параметрических методов, применение которых позволила проверка полученных данных на закон нормального распределения. Вычисляли среднее значение исследуемых величин, ошибку средней.

Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Оценивалась достоверность различий параметров ноцицептивной чувствительности в каждый день между данными групп (p<sub>1</sub>), между исходными данными и данными каждого дня (p<sub>2</sub>).

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excel и программного пакета «STATISTICA – 6.0» [15, 16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Динамика показателей ноцицепции моллюсков, находящихся в медном экране.* Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что данные П и ЛП РИ термического стимула у моллюсков контрольной группы изменяются фазно. Так, с первых по седьмые сутки эксперимента происходило плавное снижение изучаемых показателей: П уменьшался с 30,98°C до 30,58°C, ЛП – с 10,59 с до 9,98 с. В последующие трое суток наблюдения значения параметров ноцицепции несколько увеличивались, однако с 11 суток опыта отмечалось повторенное снижение П и ЛП РИ. Минимального значения показатели интактных моллюсков достигали на 19 сутки исследования, когда снижались относительного фоновых значений П на 1,88%, ЛП – на 8,35%, т.е. составили 30,39±0,11°C и 9,70±0,16 с соответственно. В последующие двое суток отмечалось постепенное возрастание изучаемых показателей.

Анализ динамики параметров ноцицепции у моллюсков, которые длительное время пребывали в экране, изготовленном из текстолита, экранирующем электрическое поле и ПемП радиочастот, показал, что П изменялся в пределах от 30,2±0,147°C до 30,958±0,042°C; ЛП – от 9,412±0,223 с до 10,563±0,063 с. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что ослабление ЭМП, создаваемое медным экраном, вызывает фазные изменения показателей ноцицепции животных. Начальная

фаза характеризуется снижением П и ЛП РИ, развивающимся медленно в течение первых-седьмых суток наблюдений (рис. 1). Минимальное значение КЭ было отмечено на шестые сутки, когда оно составило  $-6,42 \pm 2,54\%$  ( $p_2 < 0,001$ ). Эти изменения отражают увеличение чувствительности моллюсков к ноцицептивному стимулу.

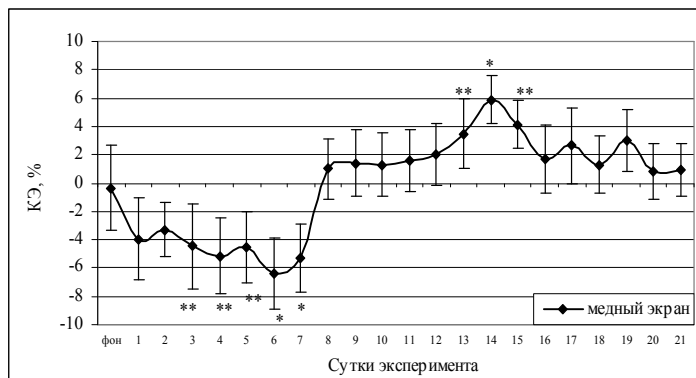


Рис. 1. Динамика коэффициента эффективности (%) ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ ) экранирования в медной камере.

Примечание: \* – достоверность различий данных у моллюсков в условиях экранирования относительно значений интактной группы животных: \* – ( $p_1 < 0,001$ ), \*\* – ( $p_1 < 0,01$ ).

II фаза заключалась в повышении значений показателей ноцицептивной реакции относительно исходного уровня, зарегистрированное после восьмидесяти суток эксперимента. В эти сроки КЭ приобретает положительный знак и достигает своего максимального значения на 14 сутки исследования ( $5,90 \pm 1,74\%$  ( $p_1 < 0,001$ )), что свидетельствует о снижении чувствительности моллюсков к термическому стимулу, т.е. развитии антиноцицептивного эффекта. В последующие дни наблюдалось постепенное снижение этого эффекта и достижение его значений исходного уровня.

В более ранних работах нами также были продемонстрированы трехфазные изменения ноцицепции у моллюсков, которые длительное время пребывали в ферромагнитном экране [12]. При сравнении динамики параметров ноцицепции у моллюсков, находящихся в экранах, изготовленных из различных материалов, отмечены некоторые сходства и различия их эффектов. В обоих случаях развиваются фазные изменения П и ЛП РИ, однако, ферромагнитный экран вызывает более выраженные изменения ноцицепции: КЭ в I и во II фазе изменяется в 2 раза больше, чем в медном экране. Таким образом, ослабление электрического поля и ПемП радиочастот приводит к менее выраженным изменениям ноцицепции, чем ослабление ПемП низких частот.

Во многих исследованиях было показано, что результат экспериментов существенно зависит от многих условий проведения опытов, в частности, от материалов экрана. Так, в экспериментах С.А. Алферова и др. (1981) [17] были получены данные, что у *E. coli* повышается устойчивость к действию ультрафиолетового облучения при использовании стального экрана. Исследования Ю.Н. Ачкасова с сотр. (1973) показали, что электромагнитный экран (4 мм латуни,

ослабление радиоволн с частотой выше примерно 2 кГц) приводит к подавлению жизнедеятельности бактерий, а пермалловый (трехслойный) – к некоторой ее стимуляции [18].

Исследователям Томского Медицинского института им. П.М. Нагорского (А.М. Опалинской, Л.П. Агуловой, Г.Ф. Плехановым (1973, 1984)) удалось выяснить, что время оседания и флуктуации  $\text{ViOCl}$  уменьшались в стальном на 37% и в 1,5 раза и пермалловом экранах на 50% и в 2,6 раза соответственно. Подобное уменьшение флуктуации отмечено в опытах с агглютинацией брюшнотифозных бактерий *Salmonella t.* с применением таких же экранирующих объемов из стали и пермаллоя [19, 20].

В экспериментах на растительных объектах было обнаружено, что при изоляции растений проводящей сеткой (от электрического поля и радиоволн) эффект сильно зависит от погодных условий [21]. Частичное электромагнитное экранирование влияет на водопоглощающую способность семян [22], а глубокое – вызывает задержку в прорастании семян, замедляет рост проростков у таких растений, как горох, чечевица, лен воспроизводилась [23, 24], а также по-разному сказывается на левые и правые изомеры лука [25].

В работах М.П. Травкина, Н.М. Антоновой (1973) [26], а также в исследованиях В.М. Афоной и др. (1973) [27] на *Drosophila melanogaster* обнаружено, что ферромагнитные экраны при коэффициенте экранирования  $10\text{-}10^5$  снижали плодовитость и продолжительность жизни плодовых мушек. При пребывании термитов *Heterotermes indicola* в боксах из полистирола отмечено появление корреляции пищевого потребления и строительной активности с индексом магнитной активности [28–30]. Электромагнитный экран из алюминия толщиной 20 мм вызывал не только увеличение пищевого потребления, но и приводит к задержке эмбрионального развития и торможению строительства вертикальных галерей. Медный экран (1 мм) или сетка действовали аналогично, но менее эффективно.

Таким образом, проведенные нами исследования дополняют имеющиеся литературные сведения о зависимости выраженности экранообусловленных изменений процессов жизнедеятельности от свойств экрана, ослабляющего МП различных диапазонов.

Известно, что спектр ЭМП, регистрируемый на поверхности Земли охватывает огромный частотный диапазон, причем для различных диапазонов источники ЭМП различны. Экраны, изготовленные из различных материалов, могут ослаблять не только статическое магнитное и электрическое поле, но и ПемП различных частотных диапазонов. Таким образом, при пребывании биологических объектов в экранированном объеме мы имеем дело с влиянием на него спектра ЭМП, отличного от такового вне экрана. Потому, регистрируемые в экране изменения могут быть обусловлены ослаблением интенсивности ЭМП любого диапазона.

Так, в работе E. Choleris et al. (2002) исследовано изменение стрессиндуцированной аналгезии у мышей в экранах с различными свойствами [8]. Подобные эксперименты позволили сделать вывод о том, что ингибирование стрессиндуцированной аналгезии было обнаружено только при экспозиции животных в боксе из  $\mu$ -металла, ослабляющего как статическое МП, так и ПемП

сверхнизкочастотного диапазона, но не в кольцах Гельмгольца. Известно, что кольца Гельмгольца ослабляют только постоянную составляющую МП Земли, тогда как  $\mu$ -металл – и постоянную и переменную компоненты. Таким образом, эффекты экранирования не могут быть связаны только с ослаблением постоянного МП.

При пребывании животных в медном экране, который ослабляет только электрическое поле и ЭМП радиочастот, исследуемые показатели незначительно изменялись, т.е. электрическое поле также не может рассматриваться как фактор, обеспечивающий эффекты экранирования.

*Инфрадианная ритмика показателей ноцицепции при экранировании в медной камере.* Как свидетельствуют проведенные исследования, электромагнитная депривация модифицирует и инфрадианную ритмику ноцицепции моллюсков.

Применение спектрального анализа нами выявлена инфрадианная периодичность П и ЛП РИ интактных моллюсков в осенний сезон года. В динамики инфрадианной ритмики животных контрольной группы выделено семь периодов:  $\approx 2,37^d$ ,  $\approx 2,91^d$ ,  $\approx 3,46^d$ ,  $\approx 4,13^d$ ,  $\approx 5,12^d$ ,  $\approx 7,11^d$ ,  $\approx 9,14^d$  (табл. 1).

**Таблица 1.**  
Данные спектрального анализа латентного периода моллюсков *Helix albescens* при экранировании в медной камере

	Группы животных	
	Контроль	Медный экран
Период (сутки)	2,42	2,51
Амплитуда (усл.ед.)	0,041 $\pm$ 0,004	0,049 $\pm$ 0,008
Фаза (радианы)	1,490 $\pm$ 0,123	2,972 $\pm$ 0,068
Период (сутки)	2,67	2,98
Амплитуда (усл.ед.)	0,042 $\pm$ 0,005	0,035 $\pm$ 0,005
Фаза (радианы)	1,240 $\pm$ 0,005	2,907 $\pm$ 0,005
Период (сутки)	3,37	---
Амплитуда (усл.ед.)	0,048 $\pm$ 0,006	---
Фаза (радианы)	2,407 $\pm$ 0,662	---
Период (сутки)	3,76	4,00
Амплитуда (усл.ед.)	0,041 $\pm$ 0,004	0,053 $\pm$ 0,007
Фаза (радианы)	2,522 $\pm$ 0,826	3,813 $\pm$ 0,061
Период (сутки)	---	4,92
Амплитуда (усл.ед.)	---	0,059 $\pm$ 0,009
Фаза (радианы)	---	4,931 $\pm$ 0,087
Период (сутки)	6,4	6,74
Амплитуда (усл.ед.)	0,049 $\pm$ 0,006	0,059 $\pm$ 0,010
Фаза (радианы)	2,306 $\pm$ 0,201	3,978 $\pm$ 0,097
Период (сутки)	9,14	---
Амплитуда (усл.ед.)	0,060 $\pm$ 0,006	---
Фаза (радианы)	2,523 $\pm$ 0,234	---

В спектре мощности у интактных моллюсков с помощью экспоненциального анализа обнаружено увеличение значений амплитуды с увеличением длины периода. Следовательно, амплитуды колебались в пределах от 0,030 усл.ед. до 0,047 усл.ед. В исследуемом спектре доминирующим периодом у интактных животных явился период продолжительностью  $\approx 9,14$  суток с амплитудой  $0,047 \pm 0,005$  усл.ед.

Спектр ЛП РИ у моллюсков, находящихся в условиях ослабления ЭМП в медном экране, состоял из пяти периодов, продолжительность которых составила  $\approx 2,51$ ;  $\approx 2,98$ ;  $\approx 4,00$ ;  $\approx 4,92$  и  $\approx 6,74$  суток. Значения амплитуды колебались от  $0,035 \pm 0,005$  до  $0,059 \pm 0,010$  усл.ед. Доминирующего спектра в инфранианной ритмике выделено не было, так как в периодах продолжительностью  $\approx 4,92$  и  $\approx 6,74$  суток амплитуды были практически равны и составили 0,059 усл.ед. (рис. 2). Экспоненциальная модель данных позволила выявить тенденцию к увеличению амплитуд с увеличением длины периода.

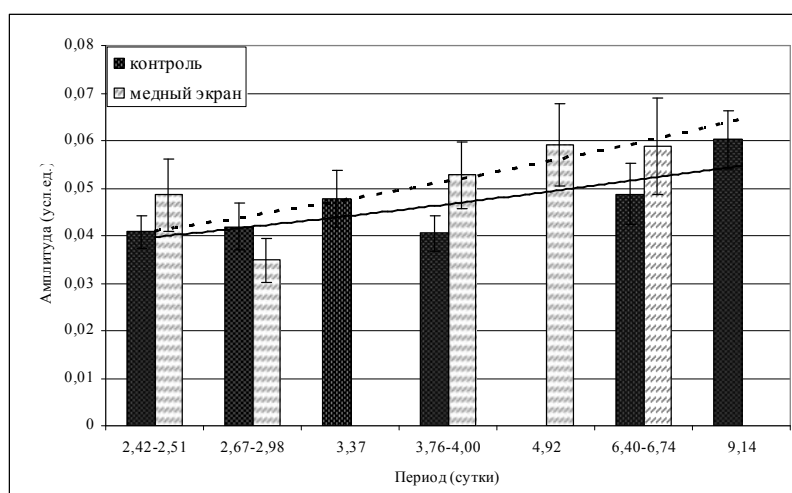


Рис. 2. Спектры периодов инфранианной ритмики латентного периода ноцицепции у интактных моллюсков и у животных в условиях экранирования в медном экране.

Как показали проведенные исследования, пребывание моллюсков в медном экране сопровождалось некоторыми изменениями инфранианной ритмики параметров ноцицепции. Так, при экранировании не обнаруживались периоды  $\approx 3,37^d$ ;  $\approx 9,14^d$ , характерные для интактных моллюсков, однако отмечено появление нового периода продолжительностью  $\approx 4,92$  суток. Достоверных различий амплитуд, а также фазных сдвигов выявлено не было. Следовательно, различия инфранианной ритмики, выявленные в параметрах ноцицепции у животных, находящихся в медном экране, и интактных животных, проявляются в структуре спектров выделенных ритмов. Эти изменения менее выражены, чем при пребывании животных в ферромагнитном экране.

Полученные нами данные о способности ослабленного МП изменять инфранианную ритмику согласуются с имеющимися литературными данными. Изменения ритмических процессов в условиях экранирования обнаружено и в других исследованиях. А.П. Дубров (1968, 1974) наблюдал нарушения суточной ритмики выделения органических веществ корнями проростков ячменя по сравнению с контрольными растениями, находящимися в условиях компенсации гипомагнитного поля до уровня  $\pm 90$  нТл, с помощью колец Баренбека [31, 32].

R. Wever (1973) выявил изменения циркадианного ритма кардиореспираторной системы у добровольцев, находившихся в экранирующем бункере [33]. Обнаруженные нами изменения параметров ИР ноцицепции могут быть связаны с ослаблением внешних датчиков времени, обусловленным экранированием.

Было обнаружено влияние МП других параметров на ритмику параметров ноцицепции. Так, Э.Р. Желдубаева описала это явление при действии ЭМИ КВЧ [34]. Показано также, что ПеМП частотой 60 Гц индукцией 0-2,5 мТл изменяет циркадианную ритмику болевого порога у мышей [35].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что пребывание животных в экране, изготовленном из текстолита, ослабляющем электрическое поле и ПеМП радиочастот, вызывает фазные изменения ноцицепции моллюсков, а также лишь тенденцию к изменению инфранианной ритмики изучаемых параметров.

Таким образом, важную роль в эффектах экранирования играет не только ослабление интенсивности статического поля и ПеМП определенных диапазонов, а изменения их соотношения, т.е. изменения всего спектра действующих ЭМП.

## ВЫВОД

Многодневное пребывание животных в экране, изготовленном из текстолита, ослабляющего электрическое поле и ПеМП радиочастот, вызывает трехфазные изменения ноцицепции моллюсков: увеличение чувствительности к термическому стимулу (первые-седьмые сутки наблюдения,  $KЭ = -6,42 \pm 2,54\%$ ) сменяется развитием антиноцицептивного эффекта (14 сутки,  $KЭ = 5,90 \pm 1,74\%$ ) и дальнейшим возвращением параметров ноцицепции к исходному уровню данных, а также лишь тенденцию к изменению инфранианной ритмики изучаемых параметров.

## Список литературы

1. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности / Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. – 1999. – Т. XLIII, № 5. – С. 3–11.
2. Владимирский Б.М. Влияние солнечной активности на биосферу – ноосферу (Гелиобиология от А.Л. Чижевского до наших дней) / Б.М. Владимирский, Н.А. Темурьянц. – М.: Изд-во МНЭПУ, 2000. – 374 с.
3. Adey W.R. Frequency and power window in tissue interactions with weak electromagnetic fields / W.R. Adey // Proc. IEEE. – 1980. – Vol. 68 (1). – P. 119.
4. Kavaliers M. Repeated naloxone treatments and exposures to weak 60-Hz magnetic fields have 'analgesic' effects in snails / M. Kavaliers, K. Ossenkopp // Brain Res. – 1993. – Vol. 620(1). – P. 159–162.



5. Jenrow K.A. Weak extremely-low-frequency magnetic field-induced regeneration anomalies in the planarian *Dugesia tigrina* / K.A. Jenrow, C.H. Smith, A.R. Liboff // *Bioelectromagnetics*. – 1996. – Vol. 17 (6) – P. 467–474.
6. Prato F.S. Extremely low frequency magnetic fields can either increase or decrease analgesia in the land snail depending on field and light conditions / F.S. Prato, M. Kavaliers, A.W. Thomas // *Bioelectromagnetics*. – 2000. – Vol. 21. – P. 287–301.
7. Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice / C. Del Seppia, P. Luschi, S. Ghione [et al.] // *Life Sci*. – 2000. – Vol. 66 (14). – P. 1299–1306.
8. Shielding, but not zeroing of the ambient magnetic field reduces stress-induced analgesia in mice / E. Choleris, Seppia Del, A.W. Thomas [et al.] // *Proceedings. Biological sciences. The Royal Society*. – 2002. – Vol. 269. – P. 193–201.
9. Чуян Е.Н. Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Е.Н. Чуян, Э.Р. Джелдубаева // Монография, Симферополь: «ДИАЙПИ», 2006. – 508 с.
10. Sherrington C.S. The integrative action of nervous system / Sherrington C.S. – Yale University Press: New Haven, 1906. – 411 p.
11. Besson J.M. Peripheral and spinal mechanisms of nociception / J.M. Besson, P. Chaouch // *Physiological Reviews*. – 1986. – Vol. 67. – P. 88–186.
12. Костюк А.С. Динамика болевой чувствительности моллюсков *Helix albescens* в условиях продолжительного электромагнитного экранирования / А.С. Костюк, Н.А. Темурьянц // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология. Химия» – 2009. – Т. 22 (61). – №3. – С. 75–82.
13. Вишне夫斯基 В.Г. Установка для определения параметров болевой чувствительности наземных моллюсков / В.Г. Вишне夫斯基, А.С. Костюк, Н.А. Темурьянц // *Физика живого*. – 2009. – Т. 17(2). – С. 174–178.
14. Емельянов И.П. Формы колебания в биоритмологии / Емельянов И.П. – Новосибирск: Наука, 1976. – 127 с.
15. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. – К.: Модмон, 2000. – 319 с.
16. Боровиков В. *Statistica. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд.* / Боровиков В. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
17. Алферов О.А. Влияние ослабленного геомагнитного поля на устойчивость кишечной палочки к ультрафиолетовым лучам / О.А. Алферов, Т.В. Кузнецова // *Космическая биология и авиакосмическая медицина*. – 1981. – Т. 15, № 4. – С. 57–58.
18. Ачкасова Ю.Н. Метаболизм и скорость размножения микроорганизмов, развивающихся при экранировании электрических и магнитных полей / Ю.Н. Ачкасова // *Влияние слабых электромагнитных полей на биологические объекты*. – 1973. – Т. 53. – С. 51–52.
19. Плеханов Г.Ф. Влияние экранирования от геомагнитного поля и искусственного магнитного поля на флуктуацию реакции Пиккарди / Г.Ф. Плеханов, А.М. Опалинская // *Влияние естественных и слабых искусственных магнитных полей на биологические объекты*. – Белгород, 1973. – С. 21–23.
20. Опалинская А.М. Влияние естественных и искусственных электромагнитных полей на физико-химические и элементарные биологические системы (экспериментальное исследование) / А.М. Опалинская, Л.П. Агулова. – Изд. Томского у-та, 1984. – 190 с.
21. Кичигин А.А. Влияние атмосферного электричества на процессы роста и развития растений / А.А. Кичигин // *Доклады АН СССР*. – 1955. – Т. 103, № 3. – С. 513–515.
22. Brown F.A. Inter organisms and environmental influence through extremely weak electromagnetic field / F.A. Brown, C.S. Chow // *Biology Bull*. – 1973. – Vol. 144. – P. 437–439.
23. Влияние флуктуаций геомагнитного поля и его экранирования на ранние фазы развития высших растений / Р.Д. Говорун, В.И. Данилов, В.М. Фомичева [и др.] // *Биофизика*. – 1992. – Т. 37, № 4. – С. 738–744.
24. Фомичева В.М. Проллиферативная активность и клеточная репродукция в корневых меристемах гороха, чечевицы и льна в условиях экранирования геомагнитного поля / В.М. Фомичева, Р.Д. Говорун, В.И. Данилов // *Биофизика*. – 1992. – Т. 37, № 4. – С. 745–749.

25. Шрагер Л.Н. Цитогенетический эффект действия ослабленного магнитного поля на правые и левые изомеры / Л.Н. Шрагер // Материалы III Всесоюзного симпозиума «Влияние магнитных полей на биологические объекты». – Калининград, 1975. – С.194–195.
26. Травкин М.П. К вопросам о влиянии ослабленного магнитного поля на развитие и плодовитость *Drosophila m.* / М.П. Травкин, Н.М. Антонова // Влияние естественных и слабых искусственных магнитных полей на биологические объекты. – Белград, 1973. – 82 с.
27. Афонина В.М. Влияние экранирования от электромагнитных полей на продолжительность жизни мух дрозофил / В.М. Афонина, В.Б. Чернышев, С.А. Яровенко // Влияние естественных и слабых искусственных магнитных полей на биологические объекты. – Белград, 1973. – С. 83.
28. Becker G. Korrelation zwischen der Frabaktivität vonn Termiten und der geomagnetischen Aktivität / G. Becker, W. Gerisch // Zeitschrift für angewandte Entomologic. – 1977. – Vol. 84, I. 4. – P. 353–388.
29. Becker G. Influence of Magnetic, Electric and Gravity Fields on Termite Activity / G. Becker // Material and Organisms. – 1976. – Vol. 3. – P. 407–411.
30. Becker G. Communication between Termites by Biofields / G. Becker // Biol. Cybernetics. – 1977. – V. 26. – P. 41–45.
31. Дубров А.П. Влияние гелиогеофизических факторов на проницаемость мембран и суточную ритмичность выделения органических веществ корнями растений / А.П. Дубров // ДАН СССР. – 1968. – Т. 187, № 6. – С. 1429–1431.
32. Дубров А.П. Геомагнитное поле и жизнь / Дубров А.П. – Л.: Гидрометеиздат, 1974. – 176 с.
33. Wever R.A. Human circadian rhythms ubder the influence of weak electric fields and the different aspects of these studies / R.A. Wever // Int. J. Biometeorol. – 1973. – Vol. 17, No. 3. – P. 227–232.
34. Джелдубаева Э.Р. Антиноцицептивное действие низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.13. «Физиология человека и животных» / Э.Р. Джелдубаева. – Симферополь, 2007. – 20 с.
35. Extremely low frequency magnetic field exposure modulates the diurnal rhythm of the pain threshold in mice / Y.M. Choi, J.H. Jeong, S.K. Jeong [et al.] // Bioelectromagnetics. – 2003. – Vol. 24 – P. 206–210.

**Костюк О.С. Ноцицепція моллюсків *Helix albescens* в умовах екранування в мідному екрані / О.С. Костюк // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 169-178.**

Досліджено вплив електромагнітного екрана, виготовленого з текстоліту, ослаблюючого електричне поле та змінне магнітне поле радіочастот, на параметри ноцицепції моллюсків *Helix albescens*. Виявлено, що зміни ноцицепції носять фазний характер: I фаза - збільшення ноцицептивної чутливості на 6,42% (гіпералгезія), II фаза - розвиток антиноцицептивного ефекту (зниження ноцицептивної чутливості на 5,90 %, III фаза стабілізація параметрів ноцицепції на вихідному рівні даних. Показано, що перебування моллюсків у мідному екрані викликає лише тенденцію до зміни інфрадіанної ритміки параметрів ноцицепції.

**Ключові слова:** ноцицепція, електромагнітне екранування, інфрадіанна ритміка, моллюски.

**Kostyuk A.S. Nociception of snails *Helix albescens* in shielding in copper shield / A.S. Kostyuk // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 169-178.**

The influence of an electromagnetic shield, made of the textolite, which weakens the electric field and radio frequency alternating magnetic field, the parameters of nociception mollusc *Helix albescens*. It was found that changes in nociception are phase character: I stage – an increase of nociceptive sensitivity to 6.42% (hyperalgesia), II phase - the development of antinociceptive effect (decrease in nociceptive sensitivity to 5.90%, III phase stabilization of parameters of nociception at baseline data . It is shown that the presence of snails in the copper shield is a tendency to change the parameters infradian rhythmicity of nociception.

**Keywords:** nociception, electromagnetic shielding, infradian rhythmicity, snails.

Поступила в редакцію 14.06.2011 г.

**УДК 582.475:630\*114**

## **ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ПОЧВЫ В ЛЕСНЫХ КУЛЬТУРАХ *PINUS SYLVESTRIS* НА ЯЙЛЕ**

*Крестьянишин И.А.*

*ЮФ НУБиП Украины «Крымский агротехнологический Университет», каф. земледелия,  
общей и агрономической химии, п. Аграрное, г. Симферополь, Украина  
E-mail: krest.igor@mail.ru*

В данной работе приведены результаты исследований особенностей строения почвы в лесных культурах *Pinus sylvestris* на яйле. Дана характеристика различий её строения, в связи с полнотой лесных культур, а так же дано сравнение с открытыми участками яйлы.

**Ключевые слова:** строение почвы, *Pinus sylvestris*, лесные культуры, яйла, пористость аэрации, влажность почвы, плотность сложения почвы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В лесоразведении, так же как и в агрономии, строение почвы имеет большое значение для роста и развития древесных культур. Строение (сложение) оказывает непосредственное влияние на водный и воздушный режимы почвы, интенсивность биологических процессов, газообмен между почвой и атмосферой.

Известный почвовед С.А. Захаров писал, что «строение почвы представляет результат ее генезиса, постепенного развития из материнской породы, которая дифференцируется на горизонты в процессе почвообразования». Каждый вид почвы имеет вполне определенный характер почвенного профиля. Зная это, можно определить специфику почвы, возможность её использования под те или иные культуры.

Соотношение объемов, занимаемых твердой фазой почвы и различными видами пор, называется строением или сложением пахотного слоя. Строение почвы зависит от расположения почвенных комков и частиц, от механического состава, структуры, времени и способов обработки почвы, а также от развития корневых систем растений и деятельности почвенной фауны [1].

В условиях целины (залежи), в лесу, в почве неиспользуемой в сельскохозяйственном производстве, отсутствует основной фактор, воздействующий на плотность, – механическая обработка. Цикл превращения элементов в этих условиях не сопровождается их изъятием, как это происходит при возделывании полевых культур. В природных условиях почва является замкнутой термодинамической равновесной системой. В почве действует целый ряд факторов, способных изменить её плотность: влага, роющие животные, температура, атмосферное давление. Такие явления как замерзание и оттаивание влаги,

нагревание и охлаждение, рост корней –создают значительное расклинивающее давление, способное вызвать деформации сложения почвы.

Плотность сложения почв (объёмная масса) – показатель, который широко используют в земледелии, при оценке качества почвы. Впервые достаточно подробно плотность сложения почв была описана академиком УААН В.В. Медведевым в 2004 году. В данной работе с использованием обширного экспериментального материала убедительно показано влияния строения почвы на процессы, протекающие в ней и на рост и развитие корней деревьев [2].

На Крымских яйлах подобные исследования не проводились, поэтому задачей наших исследований являлось выявление особенности пористости почвы, её влажности и плотности в связи с созданием лесных культур.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение строения почвы проводили в посадках сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на Ялтинской яйле в 2010 г. в одном из наиболее крупных массивов лесных культур общей площадью 6,3 га, расположенном на высоте 1300 м над уровнем моря вблизи возвышенности Деревья-Кая. Возраст культур на момент проведения исследований составил 40 лет. Их посадка осуществлялась механизированным способом с использованием горной лесопосадочной машины ЛМГ-2. Шаг посадки саженцев (расстояние в ряду между саженцами) составлял 0,5 м, расстояние в междурядье – 3 м.

Для определения строения почвы были взяты образцы почвы с ненарушенным сложением при помощи специальных цилиндров, а для определения влажности почвы использовали буры объёмом 100, 250, 500 см<sup>3</sup>.

После определения массы абсолютно сухой почвы в образце (с учётом поправки на влажность) и объёма образца, определяли объёмную массу почвы, для чего массу абсолютно сухой почвы делили на объём взятого образца.

Получив показатели массы абсолютно сухой почвы и характеристики плотности её твёрдой фазы (удельная её величина постоянная для данных почв), определяли объём твёрдой фазы, для чего массу почвы делили на удельную массу. По разнице между объёмом образца почвы и объёмом твёрдой фазы вычисляли объём, занимаемый общей пористостью.

Для разделения общей пористости на капиллярную и некапиллярную, учитывали физические свойства капиллярных пор поднимать и удерживать воду. Образец почвы ставили на насыщение. После того как вода заполняла все капиллярные промежутки, определяли массу воды в почве после насыщения, приняв объём 1 г воды за 1 см<sup>3</sup>, рассчитывали объём капиллярной пористости [3].

Определяли также объём пор, занимаемых водой и воздухом во время взятия образца почвы на опытном участке. Для нахождения этих показателей нужно узнать влажность почвы и рассчитать, какой объём занимает в образце вода во время взятия проб. Этот показатель характеризует степень насыщения почвы водой. По разнице между объёмом общей пористости и пор, занимаемых водой, находили объём пор, занятых воздухом во время взятия проб (степень аэрации).

Содержание влаги в почве определяли термостатно – весовым методом. Бюксы с почвой взвешивали на весах, а затем высушивали в термостате при температуре 105°C до постоянной массы (первый раз -6 часов, второй – 2 часа).

По разнице между массой сырой и сухой почвы находили количество воды, содержащейся в почве до сушки и испарившейся в процессе высушивания. Влажность, выраженную в процентах от абсолютно сухой почвы, мы определяли по формуле:

$$W = \frac{g}{P} \cdot 100\%,$$

где W – влажность почвы, %; g – масса испарившейся воды, г; P – масса абсолютно сухой почвы, г.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На Ялтинской яйле преобладают горнолуговые мощные глинисто-каменистые почвы. Мощность почвенного профиля этих почв составляет от 60 до 120 см. Наиболее мощные почвы залегают на глинистом делювии, с камнями известняков. Их формирование связано с действием эрозионных процессов: вода и ветер, способствуют сносу почвенных частиц, с вышерасположенных участков и образованию в карстовых воронках аккумулятивно-перегнойного горизонта.

Горнолуговые мощные почвы не имеют достаточно чёткого деления почвенного профиля на генетические горизонты. Аккумулятивно-перегнойный горизонт их колеблется от 20 – 40 до 60 – 80 см. Эти почвы имеют сильно-выщелоченный гумусовый горизонт мощностью 20 – 30 см с количеством гумуса 6 – 10 %, в отдельных местах с признаками бурых горнолесных почв, а на некоторых участках на северных склонах, прилегающих к верхней границе леса сохраняется слабая оподзоленность [4].

Строение почвы определяет водно-физические свойства и условия жизни растений. Оно формирует среду, в которой сосредоточены вода, воздух, растительные остатки, микроорганизмы и корни растений.

Растения в одинаковой степени негативно реагируют на чрезмерное разрыхление и уплотнение почвы. В очень уплотнённой почве затрудняется рост корней, ухудшается снабжение их водой и воздухом. Чрезмерное разрыхление почвы увеличивает испарение почвенной влаги, усиливает разложение органических остатков, и вымывание образованных при этом подвижных питательных веществ в глубокие слои.

Почва считается рыхлой, если плотность гумусового горизонта равна 0,90 – 0,96 г/см<sup>3</sup>; нормальной, если её плотность равна 0,96 – 1,15; уплотнённой – 1,15 – 1,25; сильно уплотнённой и требующей рыхления – более 1,25. Величина плотности почвы даёт возможность рассчитать запасы элементов питания и влаги в почве, а также рассчитать порозность почвы [5, 6].

Плотность почв колеблется обычно от 1,0 до 1,8 г/см<sup>3</sup>. В гумусовых горизонтах она равна 1,0 – 1,2; в чисто органогенных (лесные подстилки, торф) падает до 0,2 –

0,4. Наиболее высокая плотность почвы  $2,0 \text{ г/см}^3$  наблюдается в глеевых горизонтах заболоченных почв.

Важным показателем строения почвы является пористость почвы и отношение размеров и объёма пор. Оптимальная общая пористость окультуренного пахотного слоя составляет 55 – 65 % объёма почвы, удовлетворительная – 50 – 55, неудовлетворительная – меньше 50 %.

Состояние почвы оценивают по объёму пор заполненных воздухом, которые обеспечивают свободный газообмен между почвой и атмосферой. Установлено, что при пористости аэрации 15 – 25 % (относительно объёма почвы) газообмен в почве хороший, 10 – 15 % - удовлетворительный, меньше 10 % - неудовлетворительный. Физиологическим минимальным запасом воздуха, или порогом аэрации является пятнадцатипроцентное заполнение пор почвы [7].

Исследование почвенных горизонтов, проведенные в посадках сосны обыкновенной на Ялтинской яйле, позволили установить, что на всех трёх опытных участках (табл. 1), на глубине 0 – 10, 10 – 20 см плотность почвы низкая, что характерно для органогенных горизонтов (лесные подстилки, торф). Из таблицы 1, видно, что плотность почвы колеблется от 0,77 до 0,85, а оптимальная плотность гумусового горизонта составляет –  $1,0-1,2 \text{ г/см}^3$ . Этот слой вспушен и богат органическим веществом. В горизонте на глубине 20 – 30 см в посадках сосны обыкновенной с 90 % сомкнутостью крон плотность почвы составляет –  $1,02 \text{ г/см}^3$ , что является достаточно оптимальным показателем. В посадках сосны обыкновенной с сомкнутостью крон 50% и на открытой яйле, плотность низкая –  $0,99 \text{ г/см}^3$ . Это определяется тем, что почва на открытой яйле и на участке, где произрастает сосна с сомкнутостью крон 50%, интенсивнее поглощает влагу. Здесь лучше происходит газообмен, развитие корневых систем и интенсивность микробиологических процессов, чем в густых посадках сосны с сомкнутостью крон 90%. Оптимальная плотность пахотного горизонта для большинства растений –  $1,0 - 1,2 \text{ г/см}^3$ .

Пористость зависит от механического состава структурности, которая в свою очередь определяется деятельностью почвенной фауны (черви, насекомые и др.). Пористость так же зависит от содержания от обработки почвы и приёмов её окультуривания.

Для создания устойчивого запаса влаги в почве при хорошем воздухообмене (аэрации) необходимо, чтобы некапиллярная пористость составляла 55—65 % общей пористости. Если она меньше 50 %, то это приводит к ухудшению воздухообмена и может вызвать развитие анаэробных процессов в почве. Как видно из таблицы 1, общая пористость имеет наивысшие показатели в верхних горизонтах (в среднем от 62 до 71 %) и заметно снижается в нижних. Горизонт 0 – 20 см более разрыхлён в нём более интенсивнее накапливается гумус [4], (в отличие от горизонта 20 – 30 см). Это связано с тем, что в этом слое более интенсивно проходит процесс жизнедеятельности червей и микроорганизмов. В горизонте 20 – 30 см почва уплотнена, поэтому пористость здесь ниже. Приведённая общая пористость для всех трёх горизонтов является оптимальной. Если сравнивать по трём закладкам, то можно сказать, что в слое 0 – 10 см в посадках сосны с полнотой

## ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ПОЧВЫ...

крон – 0,5, пористость общая выше, чем в посадках сосны с полной – 0,9 и на открытом участке.

В посадках сосны с полной – 0,5 и на открытой яйле пористость аэрации выше, чем в посадках сосны обыкновенной с полной крон 0,9. Поэтому на открытой яйле и на участках, где произрастает сосна с полной – 0,5, интенсивней происходит газообмен почвенного воздуха с атмосферным, при котором почвенный воздух обогащается кислородом, а приземный (надпочвенный) – углекислотой.

Как показано на диаграмме (рис. 1), некоторая динамика параметров пористости аэрации в почве между открытой яйлой и посадкой сосны с полной крон 0,5, всё же присутствует, но она не может считаться существенной.

**Таблица 1**

**Строение почвы (среднее по культурам)**

Вариант	Глубина взятия образца почвы, см	Вес испари- вшейся воды	Вес сухой почвы	Влаж- ность почвы, %	Вес абс. сухой почвы в патроне	Плот- ность, почвы г/см	Пори- стость общая	Влаж- ность почвы в объём- ных %	Пори- стость аэрации в %
1. Сосна обыкно- венная полнота крон – 0,9 (90% сомкну- тость крон)	0-10	4,45	13,66	35,87	439,82	0,82	69,11	29,01	40,10
	10-20	5,99	23,72	25,29	457,12	0,85	67,89	21,51	46,39
	20-30	6,28	27,32	24,19	547,94	1,02	61,51	24,58	36,93
2. Сосна обыкно- венная Полнота крон – 0,5 (50% сомкну- тость)	0-10	4,47	17,94	24,80	412,35	0,77	71,04	18,73	52,30
	10-20	5,17	26,26	19,70	441,71	0,82	68,98	16,19	52,79
	20-30	3,27	17,34	19,49	530,33	0,99	62,75	19,17	43,58
3. Открытая яйла	0-10	4,61	21,68	22,06	420,71	0,78	70,45	17,18	53,27
	10-20	5,47	27,02	20,88	437,78	0,81	69,25	16,92	52,34
	20-30	4,31	23,73	18,57	534,02	0,99	62,49	18,48	44,01

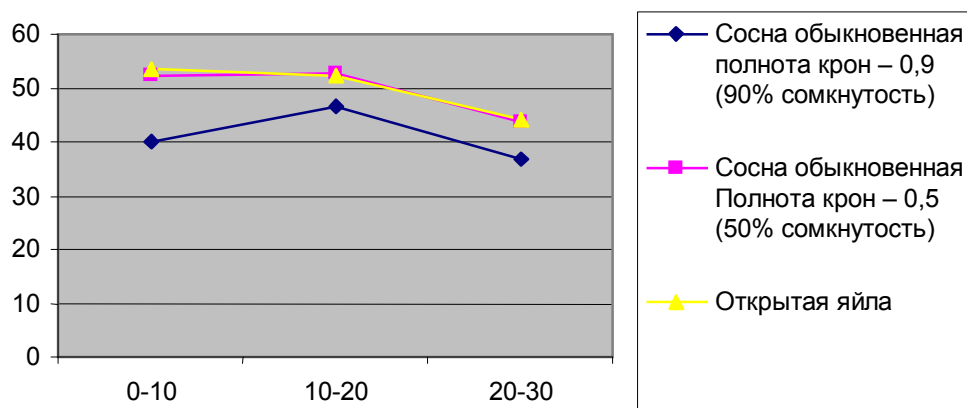


Рис. 1. Пористость аэрации на трёх закладках

При такой пористости аэрации в пахотном горизонте на всех трёх пробных площадях происходит нормальный газообмен, в нижних горизонтах он менее интенсивен, что приводит к уменьшению содержания  $O_2$  и увеличению  $CO_2$  в почвенном воздухе.

Важно, чтобы почвы имели наибольшую капиллярную пористость, заполненную водой и одновременно пористость аэрации не менее 15 % объема в минеральных и 30-40 % в торфяных почвах. Следует отметить, что пористость аэрации в профиле горнолуговых почв не опускается ниже критического порога (допустимого физиологического минимума), то есть 30 – 40%. Такие показатели пористости аэрации горнолуговых почв благоприятны для хода окислительно-восстановительных процессов, а снижение этого показателя, служит порогом для перехода аэробных условий в анаэробные.

### ВЫВОДЫ

1. В районе Ялтинской яйлы имеются достаточно благоприятные эдафические и гидротермические условия для роста и развития лесных культур. Исследование почвенных горизонтов, проведенные в посадках сосны обыкновенной, позволили установить, что на всех трёх опытных участках, на глубине 0 – 10, 10 – 20 см плотность почвы низкая. Это связано с тем, что этот слой хорошо вспушен и богат органическим веществом. В горизонте на глубине 20 – 30 см в лесных культурах сосны обыкновенной с 90 % сомкнутостью крон плотность почвы составляет –  $1,02 \text{ см}^3$ , что является достаточно оптимальным показателем. В лесных культурах с сомкнутостью крон 50% и на открытой яйле, плотность низкая –  $0,99 \text{ см}^3$ . Это определяется тем, что почва на открытой яйле и на участке, где произрастает сосна с сомкнутостью крон 50%, интенсивнее поглощает влагу. Здесь лучше происходит газообмен, развитие корневых систем и интенсивность микробиологических процессов, чем в посадках сосны с сомкнутостью крон 90%.



2. Общая пористость имеет наивысшие показатели в верхних горизонтах (в среднем от 62 до 71 %) и заметно снижается в нижележащих. Горизонт 0 – 20 см более разрыхлён в нём больше содержание гумуса, (в отличии от горизонта 20 – 30 см). Это связано с тем, что в этом слое более интенсивно проходит процесс жизнедеятельности червей и микроорганизмов. В горизонте 20 – 30 см почва уплотнена, поэтому, соответственно, и пористость ниже. В целом для всех трёх горизонтов приведённая общая пористость имеет показатели, которые являются оптимальными.
3. В посадках сосны с полнотой – 0,5 и на открытой яйле пористость аэрации выше, чем в посадках сосны обыкновенной с полнотой крон 0,9. Поэтому на открытой яйле и на участках, где произрастает сосна с полнотой – 0,5, интенсивнее происходит газообмен почвенного воздуха с атмосферным, при котором почвенный воздух обогащается кислородом, а приземный (надпочвенный) – углекислотой.

### Список литературы

1. Гордієнко В.П., Геркял., Опришко В.П. Землеробство. – К.: Вища школа, 1991 – 264 с.
2. Медведев В.В. Плотность сложения почв. Харьков.: Таймс, 2004 – 243 с.
3. Доспехов Б.А., Васильев И.П., Туликов А.М. Практикум по земледелию. – М.: Агропромиздат, 1987. – с. 18-27.
4. Кочкин М. А. Почвы, леса и климат Горного Крыма и пути их рационального использования. – М.: Колос, 1967 – 365 с.
5. Гордієнко В.П., Недвига, Осадчий О.С., Осінній М.Г. Основи ґрунтознавства і землеробства. – К.: Фенікс, 2000 – 387 с.
6. Федорец Н.Г., Медведева М.В. Методика исследования почв урбанизированных территорий. – Петрозаводск.: Карельский научный центр РАН, 2009 – 82 с.
7. Ивлев А.М., Дербенцева А.М. Физика почв. – Владивосток: Изд. Дальневосточного университета, 2005. – 74 с.

**Крестьянішін І.А. Вивчення особливостей будови ґрунту у лісових культурах *Pinus sylvestris* на яйлі / І.А. Крестьянішін // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 179-185.**

У даній роботі приведені результати досліджень особливостей будови ґрунту в лісових культурах *Pinus sylvestris* на яйлі. Дана характеристика відмінностей її будови, в зв'язку з повнотою лісових культур, а так само дано порівняння з відкритими ділянками яйлі.

**Ключові слова:** будова ґрунту, *Pinus sylvestris*, лісові культури, яйла, пористість аерації, вологість ґрунту, щільність складання ґрунту.

**Krestyanishin I.A. Study of the soil structure in forest cultures of *Pinus sylvestris* yayla / I.A. Krestyanishin // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 179-185.**

In this paper, bringing the results of investigation of the structure of forest soil in cultural tours of *Pinus sylvestris* jajle. The characteristic differences in their structure, due to the fullness of forest crops, and also given a comparison with open areas jajly.

**Keywords:** soil structure, *Pinus sylvestris*, forest plantations, Yayla, aeration porosity, soil moisture, density, composition of the soil..

Поступила в редакцію 12.05.2011 г.

**УДК 633.812.754: 578.083**

## **ТЕРМОТЕРАПІЯ IN VITRO РОСЛИН *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* MILL.**

*Манушкіна Т.М.<sup>1</sup>, Бугаєнко Л.О.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Миколаївський державний аграрний університет, Миколаїв, Україна*

<sup>2</sup>*РВНЗ «Кримський інженерно-педагогічний університет», Сімферополь, Україна*

*E-mail: latushkina2004@mail.ru*

Підбрано режим та проведено вивчення ефективності термотерапії *in vitro* для звільнення рослин лаванди від вірусу некротичної плямистості бальзаміну (INSV).

**Ключові слова:** лаванда, віруси, термотерапія *in vitro*.

### **ВСТУП**

Лаванда – пріоритетна ефіроолійна культура, а також має важливе екологічне значення, оскільки є ефективною протиерозійною рослиною і кращою культурою для вирощування на рекультивованих землях [1].

На сьогодні однією з основних причин зменшення продуктивності промислових насаджень лаванди є значна ураженість рослин інфекційними хворобами різної етіології - грибною (септоріоз, фомоз стебел, кореневі гнилі), мікоплазменної (жовтяниця), вірусної та галовими нематодами. Ефективність культивування плантацій, заражених патогенами, знижується внаслідок втрат врожаю суцвіть, які досягають 26-50%, погіршення якості ефірної олії, виродження та загибелі окремих кущів або цілих ділянок [2]. Оскільки лаванда є багаторічною рослиною, відбувається накопичення патогенів в агроценозах з кожним роком культивування та їх поширення при вегетативному розмноженні. Вказаний процес загрожує стійкому існуванню агроєкосистем, тому постає необхідність розробки прийомів оздоровлення посадкового матеріалу лаванди.

На сьогодні головними способами одержання безвірусних рослин є відбір і розмноження здорових маточних рослин на основі ранньої і точної діагностики та біотехнологічні прийоми оздоровлення посадкового матеріалу. У випадку, коли всі рослини цінного сорту або селекційної форми заражені вірусами, для їх оздоровлення залучають біотехнологічні методи: культуру апікальних меристем, термотерапію і хемотерапію [3].

Термотерапія – це обеззаражування рослин від вірусів під дією підвищених температур (найчастіше 36–42 °С). Механізм терапевтичного ефекту вивчений недостатньо, і може бути пояснений декількома гіпотезами [4]:

1) висока температура призводить до втрати інфекційності вірусних часточок, викликаючи деструкцію їх нуклеїнової кислоти або білкової оболонки (у термолабільних вірусів);

2) висока температура діє на віруси через метаболізм рослини, викликаючи дисбаланс між синтезом і деградацією вірусних часточок в сторону деградації;

3) під дією високих температур зростає інгібуюча активність клітин рослини-господаря;

4) під дією підвищених температур відбувається денатурація білкових вірусних рецепторів клітини, які беруть участь в початкових етапах інфекційного процесу, і клітини втрачають сприйнятливості до вірусу. Так, J.H. Wu і I. Rappaport було показано, що вірусні рецептори рослин швидко інактивувались при нагріванні, тоді як інтактний ВТМ і інфекційна РНК ВТМ залишались стабільними [цит. по 5].

Термотерапія *in vitro* застосовується для рослин, які характеризуються низькою термотолерантністю [6]. Ефективність такого способу звільнення від вірусів показана для троянди, цимбідіуму – 80 % [6], вишні і сливи – 100 % [7] та інших культур.

Метою досліджень було підібрати ефективні умови термотерапії *in vitro* та вивчити їх вплив на регенерацію і звільнення від вірусної інфекції рослин лаванди.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Матеріалом для проведення досліджень служили рослини лаванди вузьколистої *L. angustifolia* Mill. сортів Степова і Синєва.

Тестування вихідних рослин і рослин після терапії проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА, ELISA) в непрямій (indirect ELISA) та сендвіч (DAS-ELISA) модифікаціях [8] на 96-лункових полістиролових планшетах ("Labsystems", Фінляндія). Для аналізу відбирали наважку листків 1 г і гомогенізували в 3 мл фосфатного буферного розчину (ФБР) (0,1 моль/л) у співвідношенні 1:5 (маса: об'єм). Гомогенат центрифугували за 5000 об/хв. впродовж 15 хв., для аналізу використовували надосад. Рослинні екстракти наносили в карбонатному буфері у співвідношенні 1:1 (об'єм: об'єм). У роботі використовували кролячі поліклональні антитіла, специфічні до вірусу тютюнової мозаїки (TMV, Tobamovirus), вірусу мозаїки люцерни (AMV, Alfamovirus), вірусу огіркової мозаїки (CMV, Cucumovirus), X-вірусу картоплі (PVX, Potexvirus), вірусу брязкотіння табаку (TRV, Tobravirus), вірусу жовтої карликовості ячменю (BYDV, Luteovirus), вірусу полосатої мозаїки пшениці (WSMV, Potyvirus), вірусу некротичної плямистості бальзаміну (INSV, Tospovirus). В непрямому ІФА застосовували антивидові антитіла, мічені лужною фосфатазою ("Sigma", Німеччина). Проявляли реакцію буфером із субстратом (N-п-нітрофенілфосфат) в концентрації 1,0 мг/мл, а зупиняли 3М NaOH. Результати реєстрували на автоматичному ELISA-рідері "Dynex Technologies" при довжині хвилі 405 нм. За позитивний результат приймали показник екстинції, що перевищував показник негативного контролю в 2 рази. Для статистичної достовірності кожен зразок аналізували в 3-кратній повторності.

Термотерапії в умовах *in vitro* [3] піддавали мікропагони (неукоріненні мікророслини) та мікророслини другого пасажу, які культивували при температурі 25-26 °С на середовищах МС5 і МС18 протягом 30 діб. За цей час формувалися пагони висотою 15-20 мм. Перед початком термообробки проводили акліматизацію

дослідних рослин, які поміщали в термокамеру з температурою 25 °С, підвищували її щоденно на 2 °С впродовж тижня і доводили до 37±1 °С. Режим термотерапії: температура 37±1 °С, освітленість 2–3 клк/м<sup>2</sup>, фотоперіод 16 годин, відносна вологість повітря 60–70 %. Температуру в термокамері контролювали за допомогою тижневого термографа Т-10. Контролем служили мікропагони і мікророслини, що культивували при температурі 25–26 °С. Життєздатність пагонів визначали як відношення кількості життєздатних пагонів до загальної кількості пагонів, що піддавалися термообробці, виражене у відсотках. Облік проводили з 2-го по 20-й день термообробки. Всі експерименти ставили в двократній повторності, об'єм вибірки становив 20 рослин.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Для оздоровлення рослин лаванди вивчали можливість проведення термотерапії *in vitro*. В дослідженнях вивчали вплив підвищеної температури 37±1 °С на ріст і розвиток мікророслин лаванди та елімінацію вірусів. Така температура є стресовою для рослин, оскільки пороговою температурою переходу від сприятливих до несприятливих умов життєдіяльності є температура 35 °С. У рослин при перевищенні оптимального температурного рівня відбувається дезорганізація багатьох функцій клітини, зниження швидкості різних фізіологічних процесів [9], а при рекомендованій для термообробки температурі 38 °С відмічається лізис ядер у 5,3 % клітин, кількість клітин, які проходять процес мітотичного поділу, становить 14,3 %, тоді як при температурі 20 °С мітоз відмічається у всіх клітин [10].

Основним завданням при постановці експерименту з термотерапії *in vitro* лаванди було визначити температурний режим, при якому зберігається життєздатність верхівкових бруньок, забезпечується найбільший приріст мікропагонів і відбувається елімінація вірусів.

Для досліджень відбирали рослини без зовнішніх симптомів інфекційних хвороб. З метою виявлення латентної вірусної інфекції донорні рослини тестували методом імуноферментного аналізу. Дані ІФА показали, що дослідні зразки містять антигени INSV, при чому показник екстинції сорту Синева ( $E_{405}=0,613$  опт. од.) був вищим, порівняно із сортом Степова ( $E_{405}=0,445$  опт. од.). Показник екстинції рослинних екстрактів з сироватками, специфічними до TMV, AMV, TRV, WSMV, BYDV, CMV і PVX, перебував на рівні негативного контролю.

INSV – *Impatiens necrotic spot virus*, вірус некротичної плямистості бальзаміну, належить до родини *Tospovirus*, роду *Bunyaviridae* [11]. Вперше виявлений на бальзаміні в США в 1990 році Law M.D. і Moyet J.W. [12]. Розповсюджений в Бельгії, Німеччині, Нідерландах, Польщі, Великобританії, США, Грузії [12]. Уражує рослини з 60 родин [12], в тому числі з родини *Lamiaceae* – *Lamium*, *Lavandula*, *Melissa*, *Mentha*, *Salvia*.

Аналіз життєздатності рослин лаванди в період термотерапії показав, що цей показник залежить від експозиції термообробки, генотипу і типу досліджуваного матеріалу (рис. 1). Зниження життєздатності пагонів відбувалося на 6-8-й день термообробки, коли відмічали загибель 14,3-33,3 % верхівкових бруньок. Виключенням були мікророслини сорту Синева, у яких життєздатність пагонів на

## ТЕРМОТЕРАПІЯ IN VITRO РОСЛИН LAVANDULA ANGUSTIFOLIA MILL....

рівні 100 % зберігалася до 10-го дня культивування. Різне зниження життєздатності пагонів до 57,1-33,3 % відмічалася у обох сортів на 12-й день культивування в умовах підвищеної температури, а на 16-20-й день кількість життєздатних верхівкових бруньок у мікророслин складала 42,9-6,7 %, і відмічалася повна загибель мікропагонів.

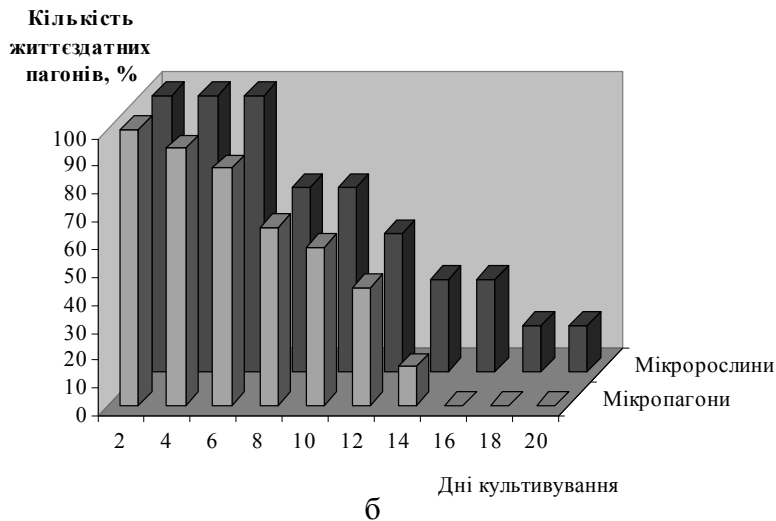
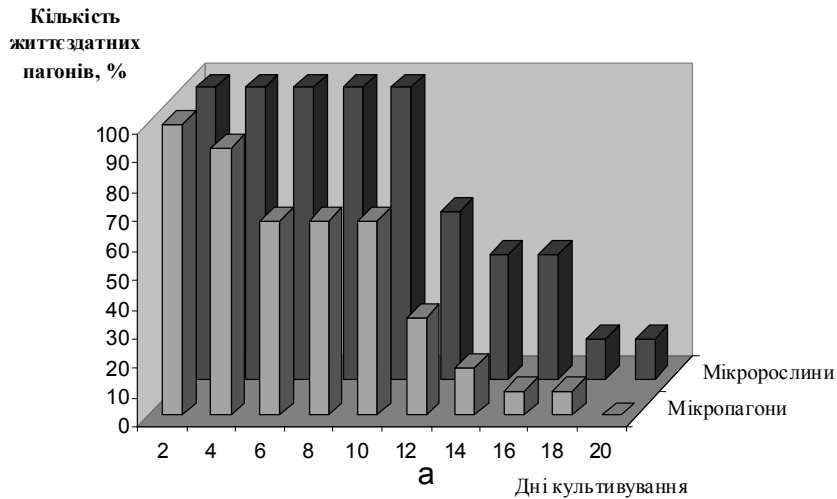


Рис. 1 Життєздатність пагонів лаванди сортів Синева (а) і Степова (б) в умовах термотерапії *in vitro*

Отже, оптимальною експозицією термообробки рослин лаванди в умовах *in vitro* є 10 діб, протягом яких зберігається життєздатність пагонів на рівні 57,1-

100,0 %. При чому, термотолерантність і інтенсивність росту рослин залежали від генотипу і типу досліджуваного матеріалу (табл. 1).

**Таблиця 1**  
**Вплив термообробки на розвиток меристемних рослин лаванди *in vitro***

Сорт	Тип досліджуваного матеріалу	Варіант досліджу	Кількість життєздатних пагонів, %	Приріст за 10 днів культивування	
				висоти пагонів, мм	пар листків, шт.
Синєва	мікропагони	контроль	100,00	11,50 ± 1,50	3,00 ± 0,00
		термообробка	66,67	12,08 ± 1,44	1,00 ± 0,00
	мікророслини	контроль	100,00	10,75 ± 2,84	2,00 ± 0,00
		термообробка	100,00	11,43 ± 1,85	1,00 ± 0,00
Степова	мікропагони	контроль	100,00	22,50 ± 1,50	2,25 ± 0,48
		термообробка	57,14	25,25 ± 3,09	1,50 ± 0,19
	мікророслини	контроль	100,00	20,00 ± 2,18	3,50 ± 0,50
		термообробка	66,67	19,67 ± 2,10	1,00 ± 0,00**

Примітка: Різниця між контрольним і дослідним варіантами достовірна при \*\*P=0,01.

Показано, що життєздатність верхівкових бруньок мікророслин була вищою в порівнянні з мікропагонами у обох сортів. У сорту Синєва за 10 днів культивування в умовах підвищеної температури життєздатність зберегли 100,0 % верхівкових бруньок, а у мікропагонів – 66,7 %. Термотолерантність рослин сорту Степова була нижчою у порівнянні з сортом Синєва – життєздатність мікророслин склала 66,7%, мікропагонів – 57,1%. Приріст пагонів дослідних рослин суттєво не відрізнявся від контрольних, а також між мікропагонами і мікророслинами одного генотипу. Однак, спостерігалися суттєві відмінності за цим показником між сортами, які досліджували, як в контрольних, так і в дослідних варіантах. У сорту Степова приріст був в 1,7-2,1 рази більший у порівнянні з сортом Синєва. За період термообробки у дослідних рослин сформувалася одна пара листків, а в контролі – дві-чотири пари листків. Можливо, при температурі 37±1 °C не відбувалося значного пригнічення росту клітин розтягуванням, внаслідок чого приріст пагонів не відрізнявся у дослідних і контрольних рослин, але, ймовірно, в цих умовах збільшувався інтервал між закладенням двох листкових зачатків (пластохрон), що обумовлювало зменшення кількості листків на пагоні в 2-4 рази у порівнянні з контролем. Таким чином, кращим рослинним матеріалом для проведення термотерапії лаванди *in vitro* є мікророслини, життєздатність яких при підвищеній температурі вища на 33,3 % у сорту Синєва, і на 9,6 % у сорту Степова ніж у мікропагонів, а довжина приросту пагонів не відрізняється між типами досліджуваного матеріалу.

З метою зменшення ризику потрапляння вірусних часточок у відрості протягом термотерапії частини пагонів для субкультивування використовували не весь приріст, а лише верхівкові бруньки висотою 3-5 мм, тобто верхівки пагонів у 2-

7 разів менші ніж довжина приросту. Верхівкові бруньки ізолювали відразу після зняття температурного стресу і культивували на живильному середовищі МС5 (табл. 2).

**Таблиця 2**  
**Розвиток ізолюваних верхівкових бруньок лаванди в культурі *in vitro***  
**(50 діб культивування)**

Біометричні параметри	Сорт Синєва		Сорт Степова	
	контроль (без термо-обробки)	після термо-обробки	контроль (без термо-обробки)	після термо-обробки
Частота регенерації, %	100,0	100,0	100,0	100,0
Висота основного пагону, мм	21,42 ± 1,41	23,25 ± 3,01	44,20 ± 2,89	47,00 ± 5,43
Кількість пар листків, шт.	4,74 ± 0,44	5,50 ± 0,48	6,90 ± 0,54	7,50 ± 0,29
Частота множинного пагоноутворення, %	100,0	100,0	70,0	60,0
Кількість додаткових пагонів, шт.	3,42 ± 0,34	6,75±0,48 <sup>***</sup>	1,36 ± 0,13	3,67± 0,67 <sup>**</sup>
Коефіцієнт розмноження	1 : 8,16	1 : 12,25	1 : 7,85	1 : 9,70

*Примітка:* різниця між контрольним і дослідним варіантами достовірна при <sup>\*\*</sup>P=0,01, <sup>\*\*\*</sup>P= 0,001.

Приживлюваність бруньок склала 100 %. Інтенсивність процесів формування основного пагону і листків з верхівкових бруньок, що пройшли термотерапію, суттєво не відрізнялася від контрольних. Однак, виявлено значне збільшення кількості додаткових пагонів у експлантів, які сформувалися в умовах високої температури (рис. 2).

У сорту Синєва з бруньок, експлантованих після термотерапії, формувалося 6-7 додаткових пагонів і 3-4 пагони в контролі. У мікророслин сорту Степова частота множинного пагоноутворення після термообробки знижувалася на 10 %, але регенерувало 3-4 додаткових пагони, тоді як в контролі розвивалося 1-2 додаткових пагони. Збільшення кількості додаткових пагонів у рослин-регенерантів після термотерапії сприяє збільшенню коефіцієнта розмноження у порівнянні з контролем.

Одержані мікропагони субкультивували на середовище МС18 для укорінення, а потім мікророслини переводили в звичайні умови культивування згідно з розробленою технологією клонального мікророзмноження [13]. Процеси ризогенезу та адаптації до умов *in vivo* у мікророслин після термотерапії не відрізнялися від контрольних.



Рис. 2 Множинне пагоноутворення у рослин лаванди після термотерапії *in vitro*

Детекцію антигенів INSV у рослинах-регенерантах після терапії проводили методом непрямого ІФА. В результаті аналізу встановлено, що звільнення рослин лаванди від вірусу INSV залежало від генотипу та концентрації вірусного антигену у вихідних рослинах.

Ефективність термотерапії для звільнення рослин сорту Синєва від INSV становила 70 %, а при застосуванні методу культури апікальних меристем розміром 0,7 мм одержано 60 % безвірусних рослин. У сорту Степова вільними від вірусу INSV були всі рослини-регенеранти. На нашу думку, це можна пояснити тим, що у вихідної рослини сорту Степова концентрація антигену була нижчою, ніж у сорту Синєва, тому швидкість накопичення вірусних антигенів була меншою; рослини сорту Степова характеризуються більшою інтенсивністю росту як інтактних рослин, так і рослин в культурі *in vitro* та при їх термотерапії порівняно з сортом Синєва, що можливо сприяє збільшенню ділянки апексу пагону, вільної від вірусу.

Оскільки вихід безвірусних рослин після проведення різних прийомів терапії у сорту Синєва коливався в незначних межах (10 %), а у сорту Степова було одержано 100 % здорових рослин, доцільно оцінити ефективність біотехнологічних прийомів з врахуванням їх дії на регенераційну здатність експлантів (табл. 3). Комплексним показником регенераційних процесів у мікророслин є коефіцієнт



розмноження, який враховує дію фактору на частоту регенерації, біометричні показники і показує потенційну кількість рослин, яку можна одержати після мікроживцювання оздоровлених рослин, що пройшли терапію. Аналіз розрахунків, приведених в Табл. 3, показує, що на вихід здорових рослин після мікроживцювання впливає генотип рослини та здатність до регенерації в культурі *in vitro* і під дією температури  $37\pm 1$  °C.

**Таблиця 3**  
**Ефективність біотехнологічних прийомів оздоровлення рослин лаванди з врахуванням коефіцієнту розмноження**

Біотехнологічний прийом	Коефіцієнт розмноження	Кількість рослин після мікроживцювання при N=10		
		всього, шт.	безвірусних, %	безвірусних, шт.
<b>Сорт Синєва</b>				
Культура апікальних меристем розміром 0,7 мм	1 : 13,28	132,8	60,0	79,7
Термотерапія <i>in vitro</i>	1 : 12,25	122,5	70,0	85,8
<b>Сорт Степова</b>				
Культура апікальних меристем розміром 0,7 мм	1 : 9,38	93,8	100,0	93,8
Термотерапія <i>in vitro</i>	1 : 9,70	97,0	100,0	97,0

Примітка. N=10 – умовна кількість рослин після терапії.

Таким чином, для звільнення рослин лаванди від INSV більш ефективним є метод термотерапії *in vitro*, оскільки даний метод забезпечує високий вихід здорових рослин за рахунок високого коефіцієнту розмноження, а також має ряд переваг у порівнянні з повітряною термотерапією *in vivo*: скорочення термінів вирощування рослин перед термотерапією з 1 року до 2-2,5 місяців; зменшення площ культивування споруд для вирощування рослин для термообробки; зменшення площі термокамери, необхідної для проведення термотерапії, і, відповідно, затрат електроенергії; виключення етапу стерилізації рослинного матеріалу перед ізолюванням відрослих верхівок пагонів і введенням їх в культуру *in vitro*; скорочення строків одержання оздоровлених рослин з 1-2 років до 4-5 місяців.

#### ВИСНОВКИ

1. Установлено, що оптимальним режимом термотерапії *in vitro* є температура  $37\pm 1$ °C, експозиція обробки – 10 діб, фотоперіод – 16 годин, кращим рослинним матеріалом є укоріненні мікророслини другого пасажу, які при застосованому режимі зберігають життєздатність на рівні 100,0 %.
2. При застосуванні встановленого режиму термотерапії вихід здорових рослин становить 70,0 % у сорту Синєва і 100,0 % у сорту Степова.

Список літератури

1. Эфиромасличное производство / Бугаенко Л.А., Назаренко Л.Г., Савчук Л.П. и др. // Научное обоснование основных направлений развития агропромышленного комплекса Крыма в условиях рыночного производства. – Симферополь: Таврия, 2004. – С. 64-79.
2. Чумак В.А. Вирусные болезни лаванды и пути оздоровления посадочного материала / В.А. Чумак, Н.М. Подмарькова, Н.А. Сенчугова // Сб. трудов ИЭЛР. – Т. XXIII. – Симферополь. – 1992. – С. 48-54.
3. Борьба с вирусными болезнями растений: Пер. с нем./ Кеглер Х., Кляйнхемпель Х., Эртель К. и др. – М.: Агропромиздат, 1986. – 480 с.
4. Журавлев Ю.Н. Фитовирусы в целом растении и в модельных системах / Ю.Н. Журавлев. – М.: Наука, 1979. – 246 с.
5. Малиновский Г.И. Реакция сверхчувствительности растений к вирусам / Г.И. Малиновский // Успехи современной биологии. – 1992. – Т. 112, вып. 4. – С. 528–540.
6. Митрофанова О.В. Биотехнологические аспекты освобождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур / О.В. Митрофанова, А.П. Михайлов, А.В. Чехов // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов Никитского ботан. сада. – 1997. – Т. 119. – С. 7-34.
7. Лукичева Л.А. Оздоровление вишни и сливы методом термотерапии *in vitro* / Л.А. Лукичева, В.И. Митрофанов // Бюллетень Никит. ботан. сада. – 2002. – Вып. 86. – С. 59-61.
8. Антитела. – Кн. 2. Методы / Под ред. Д. Кэйти. – М., 1991. – С. 152-165.
9. Chauhan Y.S. Thermostabilities of Cell Membrane and Photosynthesis in Cabbage Cultivars Differing in Heat Tolerance / Y.S.Chauhan, T. Senboku // J. Plant Physiol. – 1996. – V. 149. – P. 727-734.
10. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Н.Н. Третьяков, Е.И. Кошкин, М.Н. Макрушин и др. / Под ред. Н.Н. Третьякова. – М.: Колос, 2000. – 640 с.
11. Virus taxonomy. Sixth reports of the International Committee on Taxonomy of Viruses / Eds. by F.A. Murphy et al. – Springer-Verlag, Wien, 1995. – 587 p.
12. Ruter J.M. Gitaitis Impatiens Necrotic Spot Virus On Woody Ornamentals in Georgia / J.M. Ruter, D. Ron // SNA Research Conference. – 1993. – Vol. 38. – P. 212.
13. Манушкіна Т.М. Біотехнологія клонального мікророзмноження лаванди (*Lavandula angustifolia* Mill.) / Т.М. Манушкіна, Л.О. Бугаєнко // Бюллетень Никитського ботанічного саду. – 2009. – Вип. 99. – С. 115-118.

**Манушкіна Т.Н. Термотерапія *in vitro* рослин *Lavandula angustifolia* Mill. / Т.Н. Манушкіна, Л.А. Бугаєнко // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С.186-194**

Подобрано режим і проведено вивчення ефективності термотерапії *in vitro* для звільнення рослин лаванди від вірусу некротическої пятнистості бальзаміна (INSV).

**Ключевые слова:** лаванда, віруси, термотерапія *in vitro*.

**Manushkina T.N. Thermotherapy *in vitro* of plants *Lavandula angustifolia* Mill./ T.N. Manushkina, Bugaenko L.A. // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 186-194.**

The comparative study of efficiency of technique of improvement thermotherapy *in vitro* for clearing plants of lavender of the Impatiens necrotic spot virus (INSV) is conducted.

**Keywords:** lavender, viruses, thermotherapy *in vitro*.

Поступила в редакцію 11.05.2011 г.

**УДК:616.2-796-05.072.2**

## **ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ И БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОРГАНИЗМА ДЕВОЧЕК С ДИФFUЗНОЙ МЫШЕЧНОЙ ГИПОТОНИЕЙ**

*Маркина И.В.*

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

На основании проведенных исследований показано, что девочки с диффузной мышечной гипотонией относятся к микросоматическому и микромезосоматическому соматотипам и характеризуется замедленными темпами физического развития. Предложенная программа физических упражнений способствует существенному росту функциональных резервов оптимизации энергетического обмена.

**Ключевые слова:** девочки, соматотипирование, энергетический потенциал, физические упражнения.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Одним из наиболее распространенных функциональных нарушений среди школьников второй группы здоровья является диффузная мышечная гипотония. Не являясь отдельной нозологической формой она связана с наличием в анамнезе ребенка перинатальной патологии ЦНС гипоксического или травматического характера. С дошкольного периода осложнения перинатального поражения ЦНС, как правило, компенсируются и убывают, однако сохранность признаков диффузной мышечной гипотонии в школьном возрасте рассматривается как поздние отсроченные осложнения перенесенной травмы ЦНС и требуют соответствующей коррекции [1]. Для этой категории детей характерным являются соматические нарушения, формирующиеся на фоне сниженной неспецифической резистентности, слабости межреберных мышц и диафрагмы, измененной формы грудной клетки, астенизации, недостаточного физического развития [2]. Для этих детей, в первую очередь, показаны регулярные, специально подобранные физические упражнения. Однако, в настоящее время, в практике школьного физического воспитания дети с диффузной мышечной гипотонией ограничены в доступе к той или иной форме двигательных занятий по причине высокого риска ухудшения здоровья, при этом клиническая медицина также остаётся в стороне от этих проблем в связи с отсутствием выраженных признаков заболеваний [3]. Таким образом, крайне актуальным вопросом является разработка методов направленной коррекции наиболее распространённых функциональных нарушений у детей школьного возраста. В месте с тем в литературе достаточно скудно отражены данные вопросы, что и послужило целью исследования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях принимали участие 35 девочек основной группы с диффузной мышечной гипотонией в возрасте 10 лет и контрольная группа здоровых девочек такого же возраста, численностью 35 человек. Корректирующие воздействия для детей основной группы проводилась в течение шести месяцев, и включали в себя специальные упражнения и различные режимы двигательной активности.

Исследования физического развития детей проводились с применением антропометрических измерений и нагрузочных тестов, позволяющих выявить уровень физической работоспособности, а также оценить энергетический потенциал организма обследуемых. Интегральную оценку антропометрических показателей проводили с использованием непараметрических методов [4]. Оценивали уровень и гармоничной физического развития по результатам центильных оценок, определенных для длины, массы тела, окружности грудной клетки. Темповая характеристика роста или биологическая зрелость выявлялись на основании определения соматотипа методом суммирования номеров центильных интервалов, зарегистрированных для длины, массы тела, окружности грудной клетки. Заключение о пропорциональности физического развития делалось на основании анализа антропометрических индексов: Кетле-2, Эрисмана, жизненного индекса (ЖИ). Уровень физической работоспособности оценивали методом PWC 150 [5]. Полученные результаты обрабатывали при помощи параметрических и непараметрических методов [6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка физического развития является важнейшим аспектом объективной характеристики потенциальных возможностей организма, его адаптационных резервов. Исследования физического развития детей проводились с применением антропометрических измерений и нагрузочных тестов. В Таблице 1. представлены результаты исследования физического развития девочек основной и контрольной групп.

**Таблица 1.**  
**Фоновые показатели физического развития и девочек основной (n=35) и контрольной (n=35) групп, ( $\bar{X} \pm S_x$ )**

Группы	ПОКАЗАТЕЛИ						
	Рост, см	Масса, кг	Окруж. гр. клетки, см	Экскур. гр. клетки, см	Кетле2, кг/м <sup>2</sup>	Эрисман, усл.ед	ЖИ, мл/кг
основная	137,3±1,2 (25)	29,8±0,8 (25)	62,9±1,1 (25)	4,9±0,5	15,8±0,9 (50)	-6,3±0,4 (25)	54,0±0,5
контрольная	143,0±2,3 (75)	36,09±1,9 (75)	69,4±2,0 (90)	4,9±0,6	17,3±0,7 (75)	-3,2±0,4 (50)	57,6±0,9
p	<0,05	<0,01	<0,05	>0,05	>0,05	<0,01	<0,01

На первом этапе выявляли степень отклонения между тремя измеряемыми антропометрическими показателями, с целью определения гармоничности физического развития обследуемых детей. При этом наличие разности между номером коридоров центильных величин антропометрических показателей превышающей 1, свидетельствовало о дисгармоничности развития. На основании интегральной оценки антропометрических показателей следует отметить, что для большей части обследуемых детей характерным являлось гармоничное физическое развитие.

Однако по ряду антропометрических признаков девочки с мышечной диффузной гипотонией отличались от девочек контрольной группы. Так, центильные величины массы тела у детей основной группы находились в пределах 25 центиля (3-4 центильная зона), тогда как дети контрольной группы располагались в 75 центили 4-5 зоны. Разница в величинах массы тела между группами составляла в среднем 6,2 кг, ( $p < 0,01$ ). Центильное распределение ростовых значений соответствовало центильным величинам массы тела. Средние величины длины тела у детей основной группы равнялись  $137,3 \pm 1,2$ , тогда как у девочек контрольной группы  $143,0 \pm 2,3$  см, ( $p < 0,01$ ). Выявлены существенные межгрупповые различия в центильных значениях окружности груди. Зарегистрированные величины этого антропометрического показателя у девочек основной группы равнялись среднему  $62,9 \pm 1,1$  см, что соответствовало 25 центиллю. В контрольной группе показатель был значительно выше и достигал значений  $69,4 \pm 2,0$  см, ( $p < 0,05$ ) и находился в зоне 90 центиля.

Выявленные особенности позволяют определить, что для девочек с диффузной мышечной гипотонией характерным являлось гармоничное ниже среднего физическое развитие. Дети контрольной группы отличались гармоничным выше среднего уровнем физического развития.

Оценивая пропорциональность физического развития следует отметить, что у детей основной группы не выявлено существенного снижения массы тела относительно роста. Индекс Кетле-2 у них составлял  $15,8 \pm 0,9$  кг/м<sup>2</sup>, что соответствовало 50 центиллю и определяется как средненизкое. У девочек основной группы индекс массы тела составлял в среднем  $17,3 \pm 0,7$  кг/м<sup>2</sup>, что даёт основание сделать заключение о средне высокой величине массы тела по отношению к росту. Пропорциональность физического развития оценивалась так же с использованием индекса Эрисмана. У девочек с диффузной мышечной гипотонией отмечено снижение индекса до  $-6,3 \pm 0,4$  усл.ед., указывающее на средненизкое соотношение окружности груди к росту обследуемых. Данный показатель находился в 25 центильной зоне. У девочек контрольной группы при центильном распределении определена 50 зона для исследуемого показателя, величина индекса Эрисмана при этом равнялась  $-3,2 \pm 0,4$  усл.ед., ( $p < 0,01$ ). Не выявлено статистически значимых межгрупповых различий в показателях жизненного индекса, который в обеих группах соответствовал средним значениям.

Повторные исследования физического развития, проведенные через шесть месяцев, позволили выявить определенный уровень эффективности программы коррекции, используемой для детей с диффузной мышечной гипотонией (табл. 2.).

**Таблица 2.**  
**Показатели физического развития девочек основной (n=35) и контрольной (n=35) групп через 6 месяцев наблюдений (X±Sx)**

Группы	ПОКАЗАТЕЛИ						
	Рост, см	Масса, кг	Окруж. гр. клетки, см	Экскур. гр. клетки, см	Кетле2, кг/м <sup>2</sup>	Эрисман, усл.ед	ЖИ, мл/кг
основная	138,4±1,3 (25)	31±0,6 (25)	65,2±1,4 (50)	7,2±0,9	16,5±1,0 (50)	-3,9±0,3 (50)	57,2±1,2
контрольная	144,0±2,8 (75)	36±1,9 (75)	69,4±2,0 (90)	4,9±0,6	17,3±0,7 (75)	-3,2±0,4 (50)	52,3±1,3
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Анализируя полученные результаты следует отметить, что девочки с диффузной мышечной гипотонией отличались низкими темпами прироста антропометрических параметров. По ряду морфологических признаков не зарегистрировано изменений относительно фона. По характеристикам гармоничности физического развития дети с диффузной мышечной гипотонией приближались к группе контроля, однако по некоторым параметрам отставали от них. Так, показатели роста у девочек основной группы достоверно не изменились при постоянной массе тела. Возросли темпы развития грудной клетки. Индекс Эрисмана составил  $-3,9 \pm 0,3$  усл.ед., что позволило отнести его к 50 центилею. Окружность грудной клетки возросла примерно на 2,5 см, ( $p < 0,05$ ), а экскурсия грудной клетки увеличилась на 32,0%, ( $p < 0,01$ ).

На Рисунке 1 представлены центильные величины и центильные коридоры у детей основной и контрольной группы в динамике 6 месячных исследований.

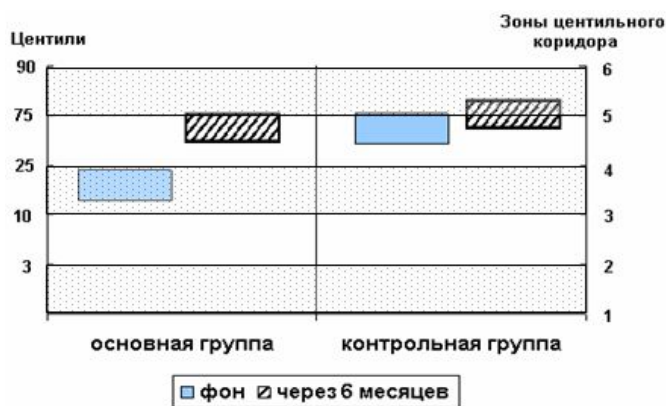


Рис. 1. Центильные величины и центильные коридоры окружности груди при различной длине тела у обследуемых девочек.

Как видно из представленных результатов, предложенная программа коррекции способствовала усилению процессов, связанных с гармонизацией физического развития детей с диффузной мышечной гипотонией. Один из наиболее важных показателей физического развития - отношение окружности груди к росту превысил свои фоновые значения. Изменения пропорций тела позволили оценить гармоничность физического развития детей основной группы как среднее.

Темповая характеристика развития обследуемых девочек определялась нами на основании соматотипирования, то есть принадлежности к одному из трех соматотипов (рис. 2).

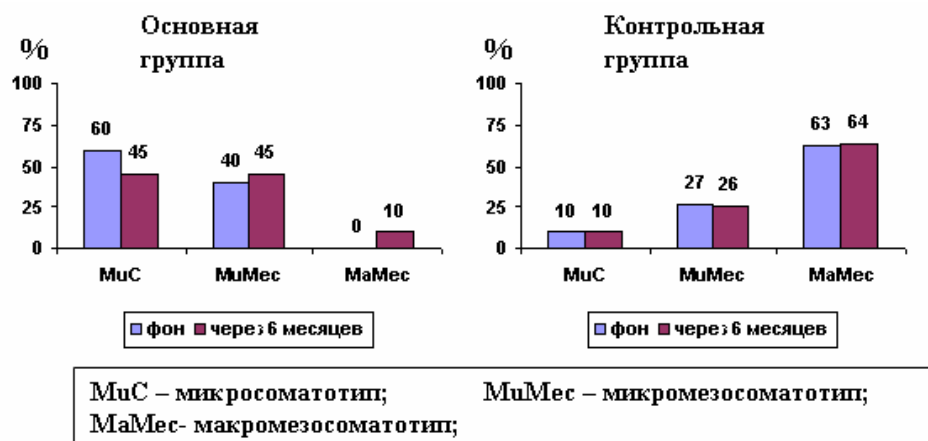


Рис. 2. Показатели соматотипирования обследуемых девочек.

Фоновые исследования позволили выявить, что 60,0 % девочек основной группы относились к микросоматическому типу, а 40,0 % детей к микромесосоматическому типу. Следовательно, у детей с диффузной мышечной гипотонией отмечался замедленный темп физического развития. У девочек контрольной группы распределение по соматотипам было несколько иным. Так, 10,0% девочек этой группы были отнесены к микросоматикам, 27,0% к микромесосоматикам, а 63,0 % к макромесосоматикам. Темп физического развития в данном случае можно определить как высокий. Через шесть месяцев при повторных обследованиях в контрольной группе не зарегистрировано существенных изменений в темпах физического развития детей. В основной группе распределение детей по показателям соматотипирования претерпело изменения. Выявлено, что количество детей, отнесенных к микросоматическому типу снизилось до 45,0 %. Большая часть детей при этом соответствовала месосоматическому типу, при чём 45,0 % девочек были отнесены к микромесосоматическому типу, а 10,0 % к соответствовали макромесосоматическому соматотипу. Таким образом стимулирующие воздействия в виде специально подобранных физических упражнений способствовали

коррекции темпов физического развития девочек с диффузной мышечной гипотонией, однако активность их была низкой.

Существенным дополнением к оценке уровня физического развития является определение биоэнергетического резерва, о состоянии которого можно судить по результатам исследования физической работоспособности. Обследуемые девочки, по результатам нагрузочного теста, были распределены на 5 функциональных классов в соответствии с разработанной шкалой (табл. 3.).

**Таблица 3.**

**Функциональные классы детей 9-10 летнего возраста зависимость от показателя PWC150 (кгм/мин)**

Функц. класс	Уровень аэробных возможностей	Мальчики	Девочки
1	Низкий	<330	<290
2	Ниже среднего	331-370	291-330
3	Средний	371-420	331-380
4	Выше среднего	421-450	381-410
5	Высокий	451>	411>

**Распределение девочек основной группы по функциональным классам**

Функц. класс	Уровень аэробных возможностей	Фон	После коррекции
1	Низкий	10 (28%)	0
2	Ниже среднего	16 (46%)	10 (28%)
3	Средний	8 (23%)	18 (52%)
4	Выше среднего	1 (3%)	5 (14,3%)
5	Высокий	0	2 (5,7%)

По результатам фоновые исследований все девочки основной группы были распределены следующим образом: 10 девочек соответствовали 1 функциональному классу, 16 – второму, 8 – третьему и 13 - четвертому. Предложенная программа коррекции существенным образом отразилась на показателях энергетического потенциала обследуемых детей и их функциональных резервах. Так, не выявлено детей с низким уровнем аэробных возможностей. Число детей, отнесенных к второму функциональному классу снизилось на 18,0%, а число девочек соответствующих третьему функциональному классу возросло более чем в 2 раза. Около 20,0% девочек значительно увеличили свои функциональные резервы, достигнув уровня четвертого и пятого функциональных классов.

В дальнейшем оценивали эффективность метаболических реакций по данным энергозатрат в состоянии относительно покоя и при выполнении стандартной нагрузки, мощностью 60 Вт (рис. 3).



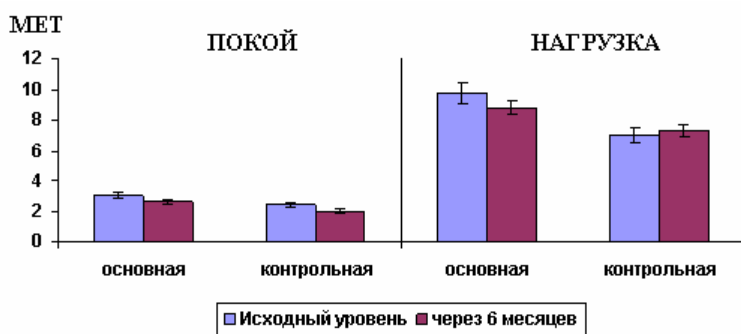


Рис. 3. Показатели энергетических трат в состоянии относительного покоя и при выполнении стандартной физической нагрузки, мощностью 60 Вт у обследуемых девочек.

Энергетические траты в состоянии относительного покоя у девочек с диффузной мышечной гипотонией значительно, более чем в 1,4 раза, ( $p < 0,01$ ) превышали данные, зарегистрированные у обследуемых контрольной группы. При выполнении стандартной физической нагрузки в основной группе отмечалось увеличение расхода энергии в среднем до 10,0 метаболических единиц. Более экономичным режимом энергетического обмена характеризовались девочки контрольной группы. Так, в состоянии относительного покоя расход энергии на осуществление текущего метаболического запроса не превышал значений  $2,22 \pm 0,11$  MET, ( $p < 0,05$ ). При предъявлении организму дополнительных функциональных требований, отмечалось повышение активности метаболических реакций, что сопровождалось ростом энергозатрат примерно до 7,0 MET. Использование в программе коррекции тренирующих режимов физических нагрузок позволило обеспечить формирование оптимального режима энергообеспечения. Феномен экономизации энергетического обмена проявился снижением энергозатрат в состоянии относительного покоя в среднем на 14,0%, ( $p < 0,05$ ), а при выполнении стандартной физической нагрузки они уменьшились до  $8,48 \pm 0,12$  MET, ( $p < 0,05$ ). В контрольной группе существенных изменений в состоянии энергетического потенциала выявлено не было.

Использование коэффициента ранговой корреляции Спирмена позволило выявить высокий уровень взаимосвязи между соматотипами и показателями энергетического потенциала обследуемых девочек ( $R = 0,78$ ,  $p < 0,01$ ). При чем наименьшими показателями работоспособности, обладали дети, отнесённые к микросоматическому типу. Средний и выше среднего уровень энергетического потенциала, как правило, регистрировался у девочек с мезосоматическим соматотипом.

## ВЫВОДЫ

1. Для детей с диффузной мышечной гипотонией характерным является гармоничное ниже среднего физическое развитие, определяемое снижением массы тела, средненизким соотношением окружности груди к росту, равнявшемуся 25 центиллю. При соматотипировании выявлено, что 60,0%

- девочек основной группы относятся к микромезосоматическому типу, что свидетельствует о замедленных темпах физического развития.
2. По данным нагрузочного тестирования выделено пять функциональных классов, которым соответствовали определенные значения физической работоспособности. Большая часть девочек основной группы была отнесена к 1 и 2 функциональным классам, что соответствует низким и ниже средним показателям энергетического потенциала.
  3. Использование разработанной программы коррекции позволило повысить темпы физического развития детей основной группы. По характеристикам гармоничности физического развития дети с диффузной мышечной гипотонией максимально приблизились к группе контроля. Количество детей, отнесенных к микросоматическому типу снизилось до 45,0 %. Отмечен феномен экономизации энергетического обмена, проявляющейся снижением энергетических трат в состоянии покоя на 14,0%, ( $p < 0,05$ ), а при выполнении дозированной физической нагрузки до  $8,481 \pm 0,12$  МЕТ, ( $p < 0,05$ ).
  4. Использование коэффициента ранговой корреляции позволило выявить высокий уровень взаимосвязи между соматотипами и показателями энергетического потенциала организма детей ( $R = 0,78$ ,  $p < 0,01$ ).

#### Список литературы

1. Ратнер А.Ю. Поздние осложнения родовых повреждений нервной системы: Монография. / Ратнер А.Ю.- Казань, 1990.- 256 с.
2. Растущий организм в условиях мышечной деятельности: 3б. науч. тр.- Казань, 1990. – 183 с.
3. Вишневецкий В.А. Здоровьесбережение в школе / В.А. Вишневецкий // Теория и практика физической культуры. - 2002.- № 4 - С.20-27.
4. Рост и развитие ребенка / В.В. Юрьев, А.С. Симаходский, Н.Н. Воронович, М.М. Хомич. - Санкт-Петербург: Питер, 2003.- 260 с.
5. Аулик И.В. Определение физической работоспособности в клинике и спорте / Игорь Викторович Аулик. – М.: Медицина, 1990. – 192 с.
6. Урбах В.Ю. Биометрические методы / Владимир Юрьевич Урбах – М.: Наука, 1964.-415 с.

**Маркина І.В. Фізичний розвиток і біоенергетичні характеристики організму дівчаток з дифузною м'язовою гіпотонією / І.В. Маркина // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 195-202.**

На підставі проведених досліджень показано, що дівчатка з дифузною м'язовою гіпотонією відносяться до мікросоматичного і микромезосоматичного соматотипам і характеризується сповільненими темпами фізичного розвитку. Запропонована програма фізичних вправ сприяє істотному зростанню функціональних резервів оптимізації енергетичного обміну.

**Ключові слова:** дівчатка, соматотипування, енергетичний потенціал, фізичні вправи.

**Markina I.V. Physical development and biopower descriptions of organism of girls with diffuse muscular gipotoni / I.V. Markina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 195-202.**

It is rotined on the basis of the conducted researches, that girls with a diffuse hypomyotonia behave to mikrosomatical and mikromezosomatical somatotips and characterized the slow rates of physical development. The offered program of physical exercises is instrumental in substantial growth of functional backlogs of optimization of power exchange.

**Keywords:** girls, somatotipirovanie, power potential, physical exercises.

*Поступила в редакцию 09.06.2011 г.*

**УДК:612.172.1:612.766.1:612.81]-057.875:796/799**

## **ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У СТУДЕНТОК С НЕДОСТАТОЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТИМУЛИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ**

*Минина Е.Н.*

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

В группе со сниженными функциональными резервами и низким уровнем физической работоспособности коррекция механизмов вегетативной регуляции в сторону их оптимизации возможна как при воздействии сочетания физической нагрузки и эфирных масел, так и при самостоятельном использовании только эфирных масел. В последнем более адекватная регуляция адаптационными процессами происходит не за счет накопления функциональных резервов, а в результате снижения адаптационного напряжения.

**Ключевые слова:** двигательная активность, регуляция вегетативной нервной системы, вариационная пульсометрия, «Полиоил».

### **ВВЕДЕНИЕ**

Двигательная активность является одним из ведущих факторов, необходимых для нормальной жизнедеятельности и для противостояния стрессу [1, 2]. Многочисленные исследования указывают на высокую эффективность физической тренировки как метода, значительно расширяющего функциональные возможности организма. По данным [3], для нетренированного организма развитие его адаптационных резервов связано не только с накоплением системного тренировочного эффекта, но и с перестройкой регуляторных процессов и расширением функциональных резервов, проявляющиеся, например в адекватности вегетативной регуляции. Функциональные резервы – это диапазон возможного уровня изменений функциональной активности физиологических систем, который может быть обеспечен активационными механизмами организма[4]. Оптимальная физическая нагрузка в сочетании с рациональными рекреационными составляющими здорового образа жизни является наиболее эффективной формой увеличения функциональных резервов и работоспособности, а как следствие снижения заболеваемости и повышения качества жизни[5–8]. При этом вопрос о «внутренней неоднородности здоровой популяции», связанных с различным уровнем биологического развития поднимается уже давно. Факт влияния тренировочного процесса на развитие и оптимизацию системного функционального ответа известен и хорошо изучен. Но есть необходимость в поиске дополнительных факторов, расширяющих возможности адекватного реагирования организма с целью получения положительного приспособительного результата.

В настоящее время недостаточно изученным являются особенности вегетативной регуляции сердечной деятельности при воздействии различных стимулирующих факторов и их влияния на процессы адаптации в норме у здоровых людей с недостаточным уровнем двигательной активности. Активно изучается применение природных и преформированных физических факторов в виде пролонгированного воздействия смесью эфирных масел в природных концентрациях на кардио-гемодинамический гомеостаз, а следовательно и на адаптационные резервы организма. [17]. Вопросы влияния запаховых раздражителей на функциональное состояние организма и процессы адаптации остаются еще пока мало изученными и потому составили цель данного исследования. А задачей исследования явилось изучение изменений параметров вегетативной регуляции сердечного ритма у девушек со сниженными функциональными резервами и с недостаточным уровнем двигательной активности при цикловом применении одоранта «Полиол», а также в комплексе с физическими упражнениями аэробной направленности.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В диагностике функционального состояния получили широкое распространение методы математического анализа сердечного ритма [3, 4]. Математический подход в анализе сердечного ритма позволяет получить информацию о механизмах регуляции кровообращения и организма в целом и, следовательно, может служить показателем адаптационных процессов к различным факторам внешней среды. Вегетативный тонус, реактивность и вегетативное обеспечение дают представление о гомеостатических и адаптивных возможностях организма. Формирование вегетативной дисфункции напрямую связан с развитием дизадаптации.

В нашем исследовании принимали участие условно здоровых 50 девушек 19-20 лет. Основную группу составили 40 студенток с недостаточным уровнем двигательной активности и 10 девушек с оптимальной двигательной активностью в качестве контрольной группы. У студентов достаточный уровень двигательной активности предполагал недельный объём 10-14 часов занятий [6]. Основная группа была поделена на две равные группы по способу стимулирующего воздействия. Одна группа в течении 8 недель занималась физическими упражнениями аэробной направленности (бег) и дополнительно подвергалась воздействию летучих фитоорганических веществ в виде вдыхания смеси эфирных масел («Полиол») по установленной методике. Другая группа использовала только пролонгированное воздействие эфирных масел. В каждой из этих групп по уровню физической работоспособности были выделены две подгруппы: с низким уровнем относительной физической работоспособности (ниже 13 кгм/мин), и средним (13-15 кгм/мин). Физическую работоспособность исследовали с помощью велоэргометрического теста PWC-170. [9]. С целью оценки вегетативного обеспечения сердечной деятельности использовали вариационную пульсометрию по Баевскому. Исследования проводили как в состоянии покоя, так и после функциональных тестов – дозированного бега на тредбане мощностью 50 Вт.

Анализировали следующие показатели: частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), мода (Мо, мс), амплитуда моды (АМо, %), коэффициент вариации (CV, усл.ед), индекс вегетативной регуляции (ИВР, усл.ед), вегетативный показатель ритма (ВПР, усл.ед), показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР, усл.ед), индекс напряжения вегетативных систем (ИН, усл.ед), спектральные показатели - VLF – мощность спектра очень низкочастотного компонента variability в % от суммарной мощности колебаний, LF – мощность спектра низкочастотного компонента variability в % от суммарной мощности колебаний, HF – мощность спектра высокочастотного компонента variability в % от суммарной мощности колебаний, в покое, после нагрузок до коррекционного воздействия и после 8 недель воздействия.

Наиболее информативными для оценки адаптационных изменений в организме являются показатели кардиоинтервалографии, зарегистрированные сразу после выполнения дозированной физической нагрузки. Использовали компьютерный кардиографический комплекс CARDIOLIFE версия 1.2 хх. Исследования проводили с учетом физиологических циклов, в первой половине дня. Статистический анализ проведен с применением программы «Statistica 6.0».

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вопрос о «внутренней неоднородности здоровой популяции» и типологических особенностях организма, связанных с различным уровнем биологического развития, актуален, но малоизучен. Адаптационные возможности и уровень здоровья напрямую зависят от функциональных резервов организма. По данным литературных источников, увеличение variability сердечного ритма (BCP) рассматривается как один из критериев возможности физиологической адаптации. [2, 3]. Доказано, что показатели variability сердечного ритма в значительной степени обусловлены уровнем повседневной физической активностью обследуемых. Так BCP у тренированных лиц достоверно выше, чем у нетренированных лиц, при этом различия отмечаются по временным показателям и не выявляются по спектральным. Вероятно, оправданно было бы рассмотрение особенностей вегетативной регуляции сердечного ритма и возможности её коррекции с учётом уровня двигательной активности исследуемых. Анализируя состояние вегетативного баланса и эффекты коррекционных воздействий у здоровых, но отличающихся по уровню двигательной активности студенток, можно заключить, что прогностическое и диагностическое значение удлинения кардиоинтервалов и возрастание их variability может быть корректно оценено только при учёте целостной реакции организма и её динамики. Практика показывает, что сходные состояния и изменения сердечного ритма могут наблюдаться при неодинаковых, или даже противоположных процессах. Например, усиление влияния блуждающих нервов и замедление ритма сердца характерно для таких неодинаковых процессов, как снижение стрессорной реакции, так и её нарастание, если повышение артериального давления вызывает рефлекторную брадикардию, или при волевом напряжении, при состоянии высокой сосредоточенности.

В связи с вышесказанным, целесообразно провести анализ особенностей вегетативной регуляции, предварительно определив исходный уровень физической работоспособности студенток. Теоретически, нарушение регуляторной вегетативной

деятельности приводит с одной стороны к дискоординации рабочих процессов и снижению эффективности физиологических затрат, с другой – к прямому угнетению функции исполнительных органов, т.е. понижению уровня работоспособности.

В результате анализа исходных данных у студенток основной группы были выделены два уровня физической работоспособности: низкий и средний. В первую группу вошли студентки с относительными показателями физической работоспособности ниже 13 кгм/мин/кг (НУФР). Во вторую – выше 13 кгм/мин/кг, но ниже 15 кгм/мин/кг (СУФР). У студенток с оптимальным уровнем двигательной активности определили высокий уровень относительной физической работоспособности -выше 15 кгм/мин/кг (ВУФР). Средние величины PWC-170/кг у нетренированных женщин 10 кгм/мин/кг, у тренированных 13,9 кгм/мин/кг ( $p < 0,05$ ).

На Рис. 1 отображено различие распределения в этих группах типов вегетативного тонуса. Так, в нашем исследовании исходный вегетативный тонус у студенток с недостаточным уровнем двигательной активности, распределился следующим образом: 57%-ваготония, 20%-эйтония, и 23%-симпатикотония в группе низким уровнем физической работоспособности и 49%, 20% и 31% соответственно в группе со средним уровнем физической работоспособности (рис.1).

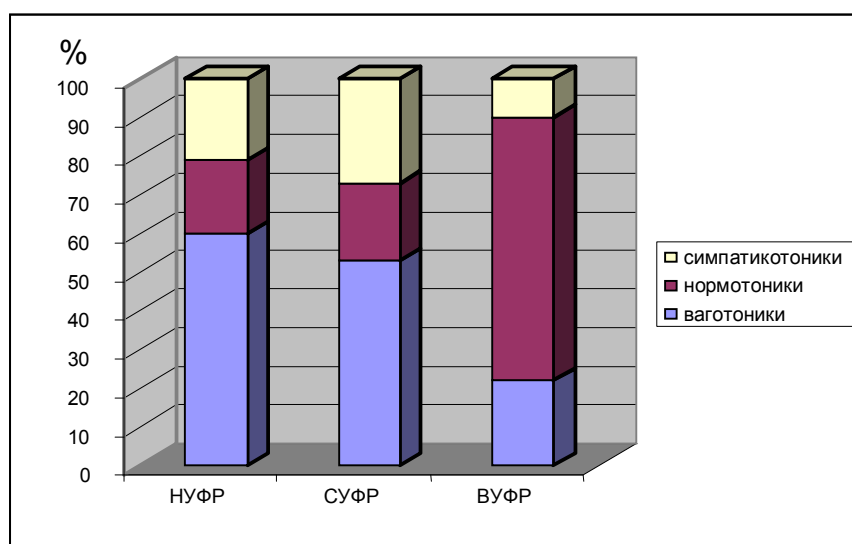


Рис.1 Исходный вегетативный тонус в группах тренированных и нетренированных студенток.

*Примечание:* НУФР- низкий уровень физической работоспособности

СУФР – средний уровень физической работоспособности

ВУФР – высокий уровень физической работоспособности

Но высокий исходный ваготонический тонус является характерным для молодых здоровых людей и тренированных спортсменов, отличающихся высоким уровнем физической работоспособности и значительными функциональными резервами организма.

## ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА...

В нашем же случае следует говорить о нарушении баланса в механизмах вегетативной регуляции. Низкий процент по эйтоническому типу регуляции в сочетании с невысоким уровнем тренированности можно объяснить неоптимальным и неэкономичным уровнем вегетативной регуляции гемодинамики. Преобладание эйтонии в группе студенток с ВУФР отражает их достаточные функциональные резервы.

Таким образом, преобладание в группе тренированных девушек исходного вегетативного тонуса по эйтоническому типу и ваготоническая направленность регуляторных процессов в группе нетренированных подтверждает факт влияния двигательной активности на механизмы вегетативной регуляции.

В Табл.1 представлены сравнительные данные показателей вариационных показателей в группах с разным уровнем двигательной активности, а соответственно тренированности. Различия между группами с низким и средним уровнем физической работоспособности незначительны и недостоверны. Были выявлены достоверные различия между тренированными и нетренированными студентами по показателю амплитуды моды R-R.

**Таблица 1.**  
**Различия фоновых значений вариационных показателей в состоянии покоя в группах с разным уровнем физической работоспособности, ( $X \pm sX$ ,  $n=50$ ).**

Условия	Исходные нетренированные		Исходные тренированные	P1,2-P3
	НУФР ( $X \pm Sx$ )	СУФР ( $X \pm Sx$ )	ВУФР ( $X \pm Sx$ )	
Вариационные показатели				
RNNN,мс	869,69±34,96	818,50±35,79	850,7±29,65	
SDNN,мс	58,84±3,77	70,19±10,82	60,4±7,03	
МО,мс	842,56±36,44	801,79±43,32	818,7±34,2	
АМО,%	37,13±4,02	37,57±5,56	28,5±2,16	p<0.05
CV1, усл.ед	15,19±1,22	14,86±2,05	15,4±1,62	
VLf, %	16,13±2,32	20,57±2,95	23,5±4,65	
LF, %	39,56±3,14	36,36±2,69	38,7±4,4	
HF, %	42,94±3,19	41,50±4,23	36,3±5,95	
ИВР, усл.ед	38,09±3,12	38,74±6,51	36,4±3,61	
ВПР, усл.ед	0,88±0,18	1,07±0,27	1,1±0,22	
ПАПР, усл.ед	49,43±6,77	50,85±9,98	35,4±3,6	p<0.05
ИН, усл.ед	23,00±2,58	26,00±5,59	22±2,6	

Этот показатель напрямую характеризует вариабельность ритма, и отражает стабилизирующий эффект управления ритмом сердца. В основном этот эффект обусловлен влиянием центральных мобилизирующих влияний симпатического отдела ВНС. Но по литературным данным, стабилизация ритма возможна и по причине прямо противоположной – «регуляторной автономизации висцеральных систем» [10]. На данный момент существует ряд гипотез возникновения «ригидного» ритма сердца. Первая гипотеза заключается в том, что ригидность сердечного ритма обусловлена усилением симпатических влияний на сердце [3, 4].

Также предполагается [11], что при нарушениях, снижениях уровня функционирования, может наблюдаться защитная реакция в виде нервной изоляции органа. Тогда явление жёсткости ритма можно объяснить автоматическим режимом функционирования. Так называемая «центральная изоляция», по мнению многих авторов [4, 6, 8] считается предпатологическим состоянием. Достоверно больший процент амплитуды моды в группе нетренированных указывает на более сниженный тонус парасимпатической части ВНС, по сравнению с тренированными. Можно сделать вывод, что преобладание парасимпатического влияния не всегда обеспечивает достаточного функционирования этого отдела вегетативной нервной системы, что может проявиться в парасимпатической недостаточности. [12]. Другой показатель variability сердечного ритма – показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР), находясь в пределах нормы (15-50 усл.ед.) во всех трёх группах, достоверно ниже в контрольной группе тренированных девушек, что свидетельствует об оптимальных регуляторных механизмах.

С целью оптимизации функционального состояния нетренированных девушек были применены два вида стимулирующих воздействий: аэрофитовоздействие по установленной методике одорантом «Полиол» и это же воздействие, сочетанное с физическими упражнениями аэробной направленности (табл.2).

**Таблица 2**  
**Значения вариационных показателей в состоянии покоя в группе нетренированных девушек после коррекции (X+sX, n=50).**

Условия	До воздействия	Нетренированные после		Рдо-Р1	Рдо-Р2
		Аэрофито-коррекции	Комплексного воздействия		
Вариационные показатели					
RNNN,мс	846,9±29,5	803,0±22	828,4±32,1		
SDNN,мс	63,2±6,2	63,4±7,8	57,6±4,0		
МО,мс	842,5±15,1	771,7±15,7	792,0±13,3	p<0,01	p<0,05
АМО,%	36,5±3,9	32,8±3,8	40,8±3,8		
CV1,усл.ед	14,5±1,4	16,6±2,2	14,3±0,8		
VLF, %	18,1±2,2	23,3±3,0	30,9±3,9		
LF, %	38,5±3,1	34,0±1,8	37,5±3,4		
HF, %	41,1±3,2	41,0±2,8	30,2±4,3		p<0,05
ИВР,усл.ед	38,2±2,8	52,1±4,3	38,3±2,3	p<0,05	
ВПР,усл.ед	1,0±0,3	1,79±0,68	0,6±0,1		
ПАПР,усл.ед	47,9±6,2	43,5±5,3	54,6±7,6		
ИН,усл.ед	25,±2,2	30,5±3,8	24,2±1,8		

В покое снижение показателя моды в группе нетренированных студенток после аэрофитокоррекции можно расценивать как увеличение мобилизирующих центральных симпатических влияний, которые в данной группе девушек со сниженными резервами необходимы для оптимизации реакции ответа на увеличение нагрузки на систему. Обязательный сенсорный приток вызвал смещение



## ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА...

вегетативного баланса в сторону усиления симпатических модуляций. На это указывает и увеличение индекса вегетативного равновесия. Очевидно коррекционное воздействие как пролонгированными аромапроцедурами, так и при комплексном воздействии, связано с нормализацией вегетативного баланса, которое направленно на усиление влияний центральных механизмов управления физиологическими функциями организма. Такие изменения можно связать с необходимостью обеспечения внутрисистемного гомеостаза гемодинамики, изменения в которой являются лимитирующим фактором физической работоспособности и увеличения адаптационных резервов обследуемых девушек. Достоверное увеличение индекса variability ритма после воздействия фракций эфирных масел подтверждает самостоятельное влияние аэрофитокоррекции на механизмы регуляции вегетативной нервной системы. Исследования variability ритма проводили как покое так после беговой нагрузки на тредбане мощностью 50 Вт длительностью 5 мин. В группах с вышеперечисленными стимулирующими воздействиями при нагрузочном тестировании были выявлены однотипные реакции.

**Таблица 3**

**Значения вариационных показателей в группе нетренированных девушек после коррекции и контрольной группе тренированных после беговой нагрузки, ( $\bar{X} \pm s\bar{X}$ ,  $n=50$ ).**

Вариационные показатели	Трениров	До воздействия нетрен.	Нетренированные после		Рдо-Р1	Рдо-Р2
	Контроль		Аэрофито коррекции	Комплексного воздействия		
RNNN,мся	716,2±18,94	722,2±25,9	718,0±18,1	733,54±23,7		
SDNN,мс	63,2±7,17*	100,6±13,2	68,1±11,7	65,33±6,2	p<0,05	p<0,05
МО,мс	675,4±25,11	672,2±32,0	665,0±19,28	695,08±29,8		
АМО,%	59,2±6,98*	74,0±5,5	41,8±5,93	49,38±5,6	p<0,00 1	p<0,00 1
CV1,усл.ед	12,0±1,73	10,4±1,2	15,92±3,7	12,23±1,3		
VLF, %	17,1±3,9	23,4±3,1	20,1±3,26	22,38±4,6		
LF, %	42,0±2,92	39,6±3,0	39,58±2,75	33,38±2,0		
HF, %	39,3±4,55	34,5±2,4	38,1±2,4	42,77±4,5		
ИВР,усл.ед	45,6±3,59	47,7±3,4	53,5±7,2	39,30±3,4		
ВПР,усл.ед	0,7±0,32	0,9±0,1	0,75±0,76	0,69±0,1		
ПАПР,усл.ед	72,5±10,11*	121,3±11,6	64,8±10,78	74,58±10,1	p<0,00 1	p<0,01
ИН,усл.ед	34,1±4,11	36,0±2,8	40,4±9,85	29,36±2,6		

*Примечание:* - \* достоверные изменения по критерию Стьюдента в сравнении с группой не тренированных девушек.

Достоверное снижение амплитуды моды в обеих группах проявляет коррекционное влияние как комплексного воздействия, так и только влияние эфирных масел. Снижение почти в два раза показателя адекватности процессов регуляции (ПАПР) свидетельствует о более экономичном реагировании на нагрузку.

Вегетативное обеспечение деятельности характеризует адаптационный потенциал регуляции гемодинамики. В результате стимулирующих коррекционных воздействий произошла оптимизация процессов вегетативной регуляции, что привело к достоверному увеличению уровня относительной физической работоспособности в группе с изначально низким уровнем (табл.4).

Таблица 4

**Изменение относительной физической работоспособности после стимулирующих воздействий в группах с разным уровнем физической работоспособности.**

ВОЗРАСТ	PWC <sub>170</sub> ДО кгм/мин/кг	PWC <sub>170</sub> ПОСЛЕ аэрофитокоррекции кгм/мин/кг	PWC <sub>170</sub> ПОСЛЕ комплексного воздействия кгм/мин/кг	Р	
НУФР	10,0±0,2	13,2±0,8	14,6±0,8	<0,05	<0,05
СУФР	14,3±1,0	14,8±1,1	15,9±0,6	>0,05	>0,05
ВУФР	16,5± 0,7	17,0±0,9		>0,05	

*Примечание:* НУФР- низкий уровень физической работоспособности  
 СУФР- средний уровень физической работоспособности  
 ВУФР- высокий уровень физической работоспособности

Достоверное увеличение физической работоспособности в группе с низким уровнем свидетельствует о положительных сдвигах в механизмах регуляции функциональным состоянием. Как видно из полученных результатов, коррекция механизмов вегетативной регуляции гемодинамики приводит к оптимизации адаптационных процессов, а как следствие увеличение работоспособности. При анализе вегетативных изменений важное значение имеет динамика вегетативного тонуса. Изменение показателей, характеризующих вегетативный тонус, после курса аэрофитофилактики показывает, что статистически достоверно увеличивается доля обследованных с вегетативным равновесием (с 20% до 57%;  $p < 0.05$ ) при одновременном статистически значимом уменьшении долей лиц с симпатикотонией (с 23 до 18;  $p < 0.05$ ) и ваготонией (с 59% до 27%;  $p < 0.05$ ; Рис.2). Динамика изменения вегетативного тонуса гемодинамики отражает увеличение гомеостатических резервов в группе после аромавоздействия.

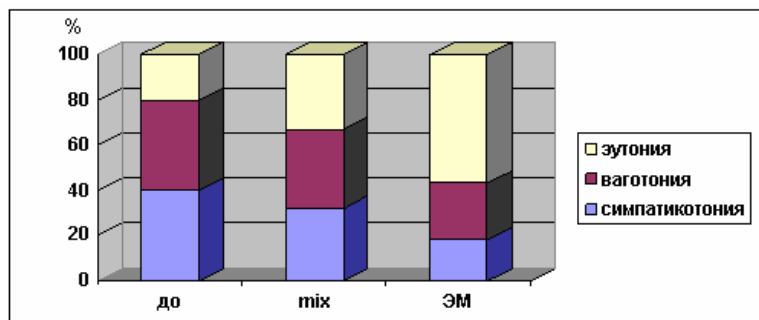


Рис.2 Динамика исходного вегетативного тонуса до и после аэрофитопрофилактики (ЭМ) и комплексного воздействия (mix).

Также проводился анализ спектральных показателей variability сердечного ритма. Из Рис. 3 видно, что структура распределения частотных составляющих сердечного ритма достоверно изменилась в покое в группе с комплексным воздействием. Это перераспределение произошло за счет снижения высокочастотной компоненты с 44% до 30% ( $p < 0,05$ ) при норме 15-25%. Снижение парасимпатического влияния на сердце приблизило распределение спектра к оптимальным величинам. Низкочастотные волны, определяющиеся как парасимпатическими так и симпатическими влияниями не менялись на протяжении всех стимулирующих воздействий в обеих группах. Волны очень низкой частоты, отражающие церебральные эрготропные влияния на нижележащие уровни и позволяет судить о функциональном состоянии мозга, и характеризуют симпатическую активность [13,14]. В нашем исследовании они достоверно увеличились в покое в группе с комплексным воздействием с 15 до 30% ( $p < 0,05$ ) и стали более соответствовать норме (15-35%). Это позволяет сделать заключение об усилении активности центральных эрготропных структур.

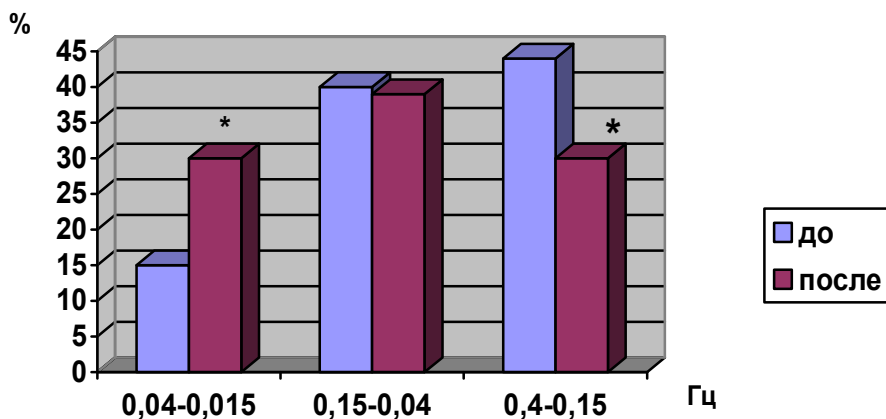


Рис.3 Изменение спектральных характеристик variability ритма сердца в покое у девушек с комплексным воздействием.

Таким образом, пролонгированное воздействие аэрофитостимуляции, как самостоятельно, так и в комплексе с физическими упражнениями аэробной направленности, способствует оптимизации вегетативного баланса в регуляции физиологической функций, что позволяет за счет включения дополнительных управляющих стимулов обеспечить совершенствование механизмов адаптации.

### **ВЫВОДЫ**

1. Коррекция механизмов вегетативной регуляции в сторону их оптимизации возможна как при воздействии сочетания физической нагрузки и эфирных масел, так и при самостоятельном использовании только эфирных масел в группе со сниженными функциональными резервами и низким уровнем физической работоспособности.
2. При использовании пролонгированного воздействия дополнительных сенсорных притоков в виде эфирных масел отмечается нивелирование доминирования симпатического или парасимпатического отделов нервной системы, т.е. происходит более эффективная настройка регуляторных механизмов для достижения полезного результата, в нашем случае – увеличении уровня физической работоспособности. В группе, которая использовала только эфирные масла вышеуказанное увеличение произошло не за счет накопления функциональных резервов, а в результате снижения адаптационного напряжения и более адекватной регуляции адаптационными процессами.
3. Метод вариационной пульсометрии достаточно чувствительный к изменению механизмов вегетативной регуляции в присутствии дополнительных управляющих стимулирующих факторов. Но прогностическое и диагностическое значение удлинения кардиоинтервалов и возрастание их вариабельности может быть корректно оценено только при учёте целостной реакции организма и её динамики.
4. Дополнительный сенсорный приток, в виде аромавоздействия эфирными маслами в природных концентрациях, можно рассматривать как фактор увеличения физической работоспособности, в особенности у контингента со сниженными функциональными возможностями.

### **Список литературы**

1. Аршавский И.А. Роль энергетических факторов в качестве ведущих закономерностей онтогенеза/ И.А. Аршавский // Ведущие факторы онтогенеза. Киев: Наукова думка. 1972. С.43-72.
2. Аршавский И.А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития./ И.А. Аршавский //М.; Наука, 1981. 282 с.
3. Баевский Р.М.. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе./ Р.М. Баевский, О.И Кириллов., С.З. Клецкин// М.: Наука, 1984,220с.
4. Баевский Р.М. Ритм сердца у спортсменов. Физкультура и спорт. / Р.М. Баевский, Р.Е. Мотылянская– М., 1986, 142с.
5. Апанасенко Г.Л. Термодинамическая концепция профилактики хронических неинфекционных заболеваний / Г.Л Апанасенко //Терапевт . арх. 1990. Т. 62, № 12. С. 56-59.

6. Апанасенко Г.Л. Соматическое здоровье и максимальная аэробная способность индивида/ Г.Л. Апанасенко, Р.Г. Науменко // Теория и практика физ. культуры. 1988. № 4. С.29-31.
7. Апанасенко Г.Л. Термодинамическая концепция профилактики хронических неинфекционных заболеваний/ Г.Л. Апанасенко // Терапевт. арх. 1990. Т. 62, № 12. С. 56-59.
8. Апанасенко Г.Л., Науменко Р.Г. Соматическое здоровье и максимальная аэробная способность индивида // Теория и практика физ. культуры. 1988. № 4. С.29-31.
9. Карпман В.Л., Исследование физической работоспособности у спортсменов./ В.Л. Карпман З.Б. Белоцерковский., И.А. Гудков // - М.: ФиС, 1974.- 95 с.
10. Коротько Г.Ф. Физиология человека/ Г.Ф. Коротько, В.М. Покровской // Том 1, Издательство «Медицина». 1997. 321 с.
11. Хитров Н.К. Руководство по общей патологии человека/ Н.К. Хитров // М. Медицина, 1999. 121 с.
12. Корзун А.И. Актуальные вопросы военно-морской медицины в период социально-экономических реформ./ А.И. Корзун, И.А. Корзун // Сборник материалов научно-практической конференции, посвященной 290-летию 1-го Военно-морского клинического госпиталя. - СПб., 2005. - С. 78-79
13. Михайлов В.М. Вариабельность ритма сердца./ В.М. Михайлов // Опыт практического применения. Иваново, 2000, 200с.
14. Мозжухин А.С. Функциональные резервы спортсмена. Проблемы повышения эффективности подготовки спортсменов и развития массовой физической культуры и спорта./ А.С. Мозжухин // Ленинград, 1983. 54 с.
15. Нидеккер И.Г. Проблемы математического анализа сердечного ритма./ И.Г. Нидеккер, В.М. Фёдоров // Физиология человека 1993; 19(3):80-87
16. Ноздрачев А.Д. Физиология вегетативной нервной системы./ А.Д. Ноздрачев // М.: Медицина, 1983 – 296 с.
17. Пономаренко Г. Н. Основы доказательной физиотерапии./ Г. Н. Пономаренко // — СПб.: ВМедА, 2003. — 224 с

**Мініна Е.Н. Особливості вегетативної регуляції серцевого ритму у студенток з недостатньою руховою активністю при різних стимулюючих воздействиях / Е.Н. Мініна // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 203-213.**

У групі з пониженими функціональними резервами і низьким рівнем фізичної працездатності корекція механізмів вегетативної регуляції у бік їх оптимізації можлива як при дії поєднання фізичного навантаження і ефірних масел, так і при самостійному використанні лише ефірних масел. У останньому адекватніша регуляція адаптаційними процесами відбувається не за рахунок накопичення функціональних резервів, а в результаті зниження адаптаційної напруги.

**Ключові слова:** рухова активність, регуляція вегетативної нервової системи, варіаційна пульсометрія, "Поліол".

**Minina E.N. The autonomic regulation of cardiac rhythm in female students with insufficient physical activity at different incentive effects / E.N. Minina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 203-213.**

In the group with reduced functional reserves and low levels of physical health correction mechanisms of the vegetative regulation in the face of their optimization as is possible under the influence of a combination of physical exercise and essential oils, as well as with the independent use only essential oils. In the last more than adequate regulation of the adaptation processes is not due to the accumulation of functional reserves, and as a result of the adaptation voltage.

**Keywords:** physical activity, regulation of the autonomic nervous system, "Poliol".

*Поступила в редакцію 13.05.2011 г.*

**УДК 338.27**

## **ДИНАМИКА ВЕКТОРОВ ПЛАНЕТНЫХ СКОРОСТЕЙ И ПРОЦЕССЫ В БИОСФЕРЕ**

*Нарманский В.Я.*

*Научно-исследовательская лаборатория «Гелиоритм», Симферополь, Украина  
E-mail: heliomechanics@gmail.com*

Статья посвящена теории и практическому использованию нового космофизического индекса, основой которого стали векторы планетных скоростей, колебания которых рассматриваются в гелиоцентрической системе координат. Индекс, получивший название «гелиомеханический» (ГМ) вычисляется компьютерной программой написанной на основе эфемериды DE200 и применяется, как инструмент исследований и прогноза биологических, медицинских, социально-экономических и др. временных рядов. Показано, что физиологические процессы имеют достоверную связь с динамикой векторов скорости планет и сделано предположение, что скорости планет является синхронизирующими, а ритмы биосферы синхронизируемыми.

**Ключевые слова:** вектор скорости, Меркурий, Марс, циклы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Как известно, проблема многоцикличности, существует не только в биологии, но и в медицине, эпидемиологии, аграрной науке, в социально-экономических дисциплинах и т.д. Автор статьи [1] рассуждая о связи климата и СА, упоминает астрономическую гипотезу Э.Броуна (1900), о которой он пишет: «это единственная гипотеза, способная объяснить иначе совершенно непонятный много циклический характер изменений во времени солнечной деятельности», заметив далее, что «на материалах наблюдений достоверность гипотезы Броуна никем не проверялась».

Мы также отметим, что со времени публикации статьи прошло без малого 40 лет, но гипотеза Э. Броуна не востребована, а цикличность остается неразрешенной проблемой не только в естественных науках. Если говорить о приемах моделирования, то методики прогноза СА, климата, экономики и иных временных рядов принципиально похожи. Прежде всего, это высокая степень математизации [2] и страдают они общим недостатком – отсутствием фундаментальной теории, на которую можно смело опереться. В этой связи обратим внимание, на упомянутую выше астрономическую гипотезу Э.Броуна и попытаемся найти точку опоры на стыке различных научных дисциплин, классической механики Ньютона и законов Кеплера. Но процессы в биосфере мы исследуем не с позиции земного наблюдателя, как это делают в горной геомеханике или астрологии, а с точки зрения наблюдателя находящегося в центре Солнечной системы. То есть переместим биолога, агрария, социолога, экономиста из привычной – видимой системы отсчета – в гелиоцентрическую систему координат. И постараемся по возможности доступно и

системно изложить наш взгляд по этой проблеме, показав вариации рассматриваемых процессов относительно динамики космических тел, согласно: законам Кеплера, резонансным свойствам Солнечной системы [3–5], синхронизации колебательных систем в природе, технике [6] и биосфере [7–13].

В рамках данной рабочей модели цикличность рассматривается относительно динамики вектора планетных скоростей в гелиоцентрической, эклиптической системе координат. Технология исследований и прогноза построена на базе эфемериды DE200 [14] и принадлежит к числу методов линейного анализа. В наших предыдущих работах метод гелиомеханика (гелиоцентрическая механика) показал свою перспективность в исследовании солнечной активности [15, 16] и климата [17].

Цель настоящего исследования – поиск связи между векторами скорости физиологических реакций и векторами скорости планет. Далее, на основании полученных закономерностей, в первом приближении, создать метод прогноза обоснованного с точки зрения классической механики. Необходимо отметить, что между изменениями параметров движения планет и биосферой существует многоступенчатый механизм физических связей, который в данной работе не рассматривается..

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом для исследований стали следующие временные ряды:

1. Временной ряд инфрадианной чувствительности крыс при воздействии низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты [13].
2. Статистика происшествий МЧС России, в интерв: <http://www.mchs.gov.ru/emergency/>
3. Элементы орбит больших планет (табл.1) на эпоху J2000.0 (NASA Goddard Space Flight Center).

В Таблице 1 приведены гелиоцентрические координаты элементов планетных орбит, долготы перигелия ( $L^\circ \pi$ ), средние сидерические периоды обращения планет (P), средняя угловая скорость (V) и эксцентриситет (e).

**Таблица 1**

**Таблица используемых в работе элементов планетных орбит**

Планеты	$L^\circ \pi$	P	V	e
Меркурий	77°.066	0.241г.	4°.0923	0.206
Венера	131.219	0.615г.	1.6021	0.0068
Земля	102.51	1.00004г.	0.986	0.617
Марс	335.6	1.8801г.	0.524	0.093
Юпитер	14.75385	11.856 г.	0.08	0.048
Сатурн	92.43194	29.423 г.	0.03	0.055
Уран	170.96424	83.74 г.	0.01	0.047

На Рис.1 показано расположение осей пересекающихся точки перигелий-афелий девяти планет солнечной системы и координаты внешних планет на 10 октября 2008 года.

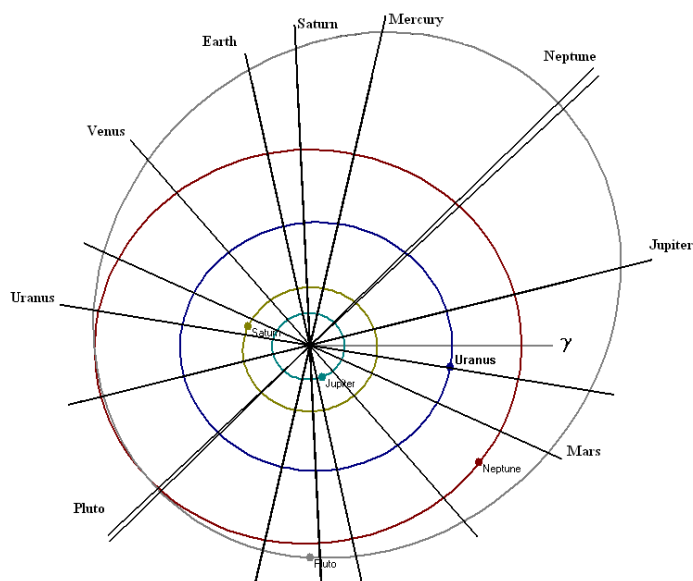


Рис.1. Показаны линии, проходящие через долготы перигелий-афелий планет солнечной системы, в гелиоцентрической системе координат. Так же показаны орбиты Юпитера, Сатурна, Урана, Нептуна, Плутона (вид Солнечной системы с северной точки мира).

Метод исследований: в одном интервале времени рассматривались физиологический и др. временные ряды, а также астрономические показатели – эклиптическая долгота планеты, в гелиоцентрической эклиптической системе координат ( $L$ ), и вектор ее угловой скорости ( $W$ ). Астрономические ряды ( $L$ ,  $W$ ) получены путем расчета, с помощью компьютерной программы сделанной на основе эфемериды DE200. Далее временные ряды сопоставлялись и анализировались методами корреляционного анализа (Пирсон), их достоверность оценивалась  $t$ -критерием Стьюдента.

Отметим, что влияние прецессии на изменение ориентации орбиты, в пределах исследуемого ряда, составляет около двух угловых градусов. Так как изменение аргументов перигелия планет, на рассматриваемом интервале времени незначительно, а цель работы показать принцип метода, для простоты расчетов примем долготы перигелия, до эпохи J2000.0, постоянными. Средняя долгота перигелия Марса в исследуемом интервале составляет  $336^\circ$  (афелий  $156^\circ$ ), Юпитера  $14^\circ$  ( $194^\circ$ ), Сатурна  $90^\circ$  ( $270^\circ$ ), Урана  $170^\circ$  ( $350^\circ$ ), относительно точки весеннего равноденствия в гелиоцентрической эклиптической системе координат.

Особо подчеркнем – в работе одновременно рассматривается, не только переменная скорость планет, но и ее направление – вектор скорости, кардинальное



изменение которого происходит в перигелии и афелии орбит. На эти моменты необходимо обратить особое внимание не только биологов, но и сейсмологов, метеорологов, экономистов и т.д.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### О природе астрономической цикличности.

Согласно второму закону Кеплера, орбиты являются эллипсами и планеты движутся вокруг Солнца не с равномерной, а с постоянно изменяющейся скоростью, в перигелии скорость планет максимально высокая, в афелии максимально низкая, то есть сидерические периоды планет фактически являются циклами. Природа цикличности планетных скоростей понятна – гравитационное взаимодействие, которое в рамках классической механики описывается законом всемирного тяготения Ньютона.

Графическое представление о векторах скорости показано на Рис.2. С помощью компьютерной программы, был произведен расчет векторов угловой скорости Юпитера, Сатурна и Урана, в интервале 1900-2020гг., и построен график. Названия планет на графиках (здесь и далее) заменены их порядковыми номерами Меркурий (W1), Венера (W2), Земля (W3), Марс (W4), Юпитер (W5), Сатурн (W6), Уран (W7).

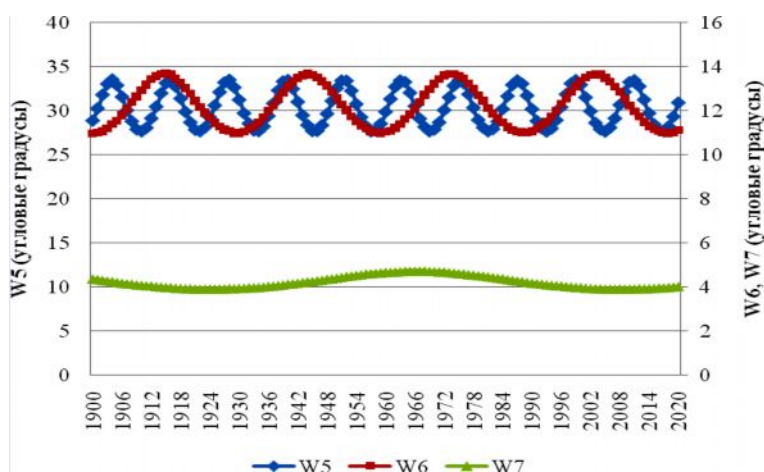


Рис.2. Показаны кривые векторов угловых скоростей Юпитера (W5), Сатурна (W6) и Урана (W7). По горизонтали – даты. По вертикали справа – угловая скорость Сатурна и Урана, слева – угловая скорость Юпитера.

На рисунке показаны три ряда волн переменной скорости Юпитера, Сатурна и Урана. Вершины волн – высокая скорость планет в перигелии, низины – низкая скорость в афелии. Показаны десять полных циклов Юпитера, четыре полных – Сатурна и один полный цикл Урана. Обратим внимание, что при наложении кривых скорости Юпитера и Сатурна выявляется повторяемость 59-летних циклов – это

проявление резонансов в Солнечной системе, где два цикла Сатурна ( $29.423 \times 2 = 58.846$ г.) и пять циклов Юпитера ( $11.856 \times 5 = 59.28$ г.) образуют один ~59-летний цикл.

Далее мы покажем точные даты прохода Марсом, Юпитером, Сатурном и Ураном точек перигелий-афелий в прошлом, и сделаем точный прогноз таких проходов в будущем, так как в эти моменты происходит наиболее важное событие – изменение направления скорости планет. На основе эфемериды DE200, был сделан расчет моментов прохода Марсом долгот перигелий-афелий в интервале 2005-2017гг. (Табл.2), и проходы Юпитером, Сатурном и Ураном установленных средних долгот перигелия и афелия в интервале 20-21 веков (табл.3–4).

Таблица 2

Таблица дат прохождения Марсом долгот перигелий-афелий

Перигелий		Афелий	
Даты	Долгота	Даты	Долгота
16.07.2005г	L 335.6°	24.06.2006г	L 155.6°
03.06.2007г	L 335.6°	11.05.2008г	L 155.6°
20.04.2009г	L 335.6°	29.03.2010г	L 155.6°
<i>08.03.2011г</i>	<i>L 335.6°</i>	<i>14.02.2012г</i>	<i>L 155.6°</i>
<i>23.01.2013г</i>	<i>L 335.6°</i>	<i>01.01.2014г</i>	<i>L 155.6°</i>
<i>11.12.2014г</i>	<i>L 335.6°</i>	<i>20.11.2014г</i>	<i>L 155.6°</i>
<i>28.10.2016г</i>	<i>L 335.6°</i>	<i>06.10.2017г</i>	<i>L 155.6°</i>

Курсивом здесь и далее выделены даты прохода Марсом долгот перигелия-афелия, ближайшая дата прохода Марсом перигелия его орбиты – 8 марта 2011 года.

Таблица 3

Таблица дат прохождения Юпитером долгот перигелий-афелий

Перигелий		Афелий	
Даты	Долгота	Даты	Долгота
19.06.1904г	L 14°	28.05.1910г	L 194°
29.04.1916г	L 14°	05.04.1922г	L 194°
10.03.1928г	L 14°	11.02.1934г	L 194°
17.01.1940г	L 14°	21.12.1945г	L 194°
25.11.1951г	L 14°	30.10.1957г	L 194°
21.08.1963г	L 14°	08.09.1969г	L 194°
13.08.1975г	L 14°	17.07.1981г	L 194°
24.06.1987г	L 14°	25.05.1993г	L 194°
03.05.1999г	L 14.7°	05.04.2005г	L 194.7°
<i>18.03.2011г</i>	<i>L 14.7°</i>	<i>20.02.2017г</i>	<i>L 194.7°</i>
<i>17.01.2023г</i>	<i>L 14.7°</i>	<i>20.12.2028г</i>	<i>L 194.7°</i>

Ближайшая дата прохода Юпитера точки перигелия 18 марта 2011 года (L 14°.75385).

**Таблица 4**

**Таблица дат прохождения долгот перигелий-афелий Сатурном**

Перигелий		Афелий	
Даты	Долгота	Даты	Долгота
21.01.1915г.	L90°	20.09.1929г.	L270°
16.06.1944г.	L90°	21.02.1959г.	L270°
19.11.1973г.	L90°	14.07.1988г.	L270°
15.04.2003г.	L92.4°	<b>05.03.2018г.</b>	L272.4°

**Таблица 5**

**Таблица дат прохождения долгот перигелий-афелий Ураном**

Перигелий		Афелий	
Даты	Долгота	Даты	Долгота
30.11.1882г.	L 170°	25.10.1924г.	L 350°
09.09.1966г.	L 170°	10.10.2008г.	L 350.9°
<b>20.06.2050г.</b>	<b>L 170.9°</b>	<b>25.03.2092г.</b>	<b>L 350.9°</b>

К сожалению, размер статьи не позволяет построить таблицы прохода Меркурием, Венерой и Землей точек перигелий-афелий т.к. они имеют большой объем и сделать прогноз времени данных проходов. Но отметим, что в высокочастотной области спектра скоростей, большая роль принадлежит векторам скорости планет земной группы.

**Скорость Марса и динамика физиологических реакций.**

В предыдущем разделе мы привели расчеты векторов скорости планет в угловых градусах, которые малопонятны для читателя неспециалиста в вопросах астрономии. В этом разделе мы рассмотрим связь между динамикой линейной скорости Марса и динамикой инфрадианной чувствительности крыс при воздействии низко интенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты. Временной ряд, в интервале 29 мая – 7 июля 2006г., был любезно предоставлен авторами эксперимента поставленного на кафедре физиологии человека и животных Таврического Национального Университета им. В.И. Вернадского [17].

Напомним, сидерический период Марса составляет 1.88 года (полупериод 0.94 года), через этот интервал планета проходит точки перигелий и афелий своей орбиты. На графике (рис.3), в указанном интервале, показана динамика болевого порога крыс и динамика вектора скорости Марса, который в данном интервале двигался вблизи афелия своей орбиты.

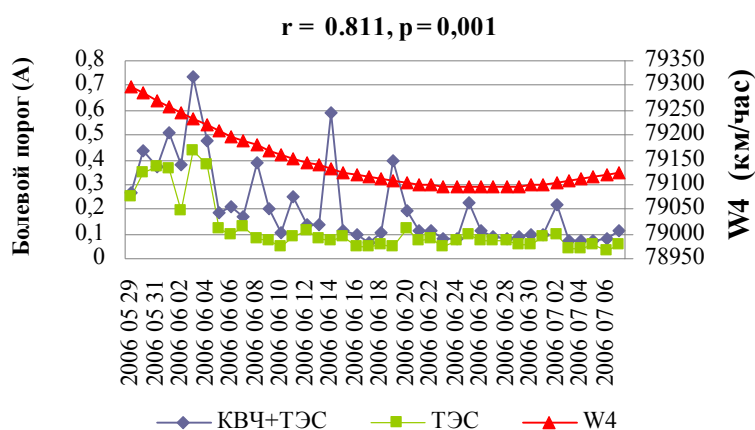


Рис.3. Показана динамика вектора линейной скорости Марса (W4, увеличенным маркером показан проход афелии орбиты) и динамика болевого порога (в амперах (А)) у крыс подвергнутых изолированному (ТЭС) и комбинированному с воздействием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (KVЧ+ТЭС) действию болевого фактора в тесте электростимуляции. По горизонтали – даты, по вертикали слева – болевой порог (А), справа – вектор линейной среднесуточной скорости Марса.

Мы видим, что динамика болевого порога животных, синхронно совпадая со скоростью Марса, снижалась вплоть до прохода планетой точки афелия 26 июня 2006 года. Необходимо отметить, что в данном интервале снижалась не только скорость Марса, но и Меркурия, который прошел афелий своей орбиты 5 июля (L257.07°), а также Земли, прошедшей афелий 4 июля (L282.5°). Из планет земной группы скорость росла только у Венеры прошедшей афелий своей орбиты вне интервала данного эксперимента – 17 мая 2006 года (L311.2°).

### Скорость Марса и динамика чрезвычайных происшествий.

Следующий пример (рис. 4) сделан в том же интервале времени, в этом случае мы также рассмотрим динамику линейной скорости Марса, но вместо биологического ряда используем статистику происшествий на водных бассейнах (архив МЧС России). Лакуны в данных МЧС по ЧП на водных бассейнах со смертельным исходом (3, 10-12, 18 июня и 1 июля) заполнены средними значениями по ряду.

В этом случае мы видим, что в дату прохода Марсом точки афелия (26 июня), когда направление его скорости менялось, число происшествий на водных бассейнах значительно выросло (26, 27 и 28 июня утонуло соответственно 94, 128 и 108 человек, при среднем по ряду 36). Этот пример, по-видимому, показывает, что при кардинальном изменении направления скорости планет снижается порог чувства опасности у человека.

В заключении мы приведем сводную таблицу, в которой в интервале 29 мая – 7 июля 2006 года сопоставлены, как исследуемые в работе временные ряды, так и временные ряды индексов геомагнитной и солнечной активности.

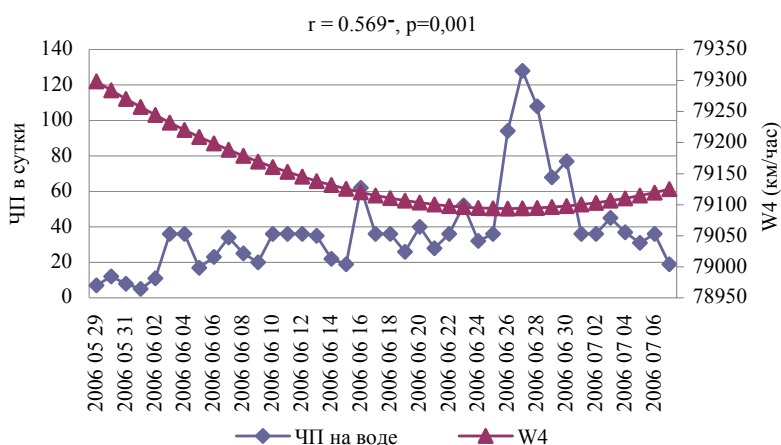


Рис.4. Показана кривая вектора линейной скорости Марса (W4, увеличенным маркером выделен проход афелия) и кривые динамики ЧП на водных бассейнах, со смертельным исходом. По горизонтали – даты, по вертикали слева – число утонувших людей, справа – линейная среднесуточная скорость Марса.

Таблица 4

Таблица коэффициентов корреляции

	КВЧ+ТЭС	ТЭС	аа-инд.	РИ10.7см	ЧП	W1	W2	W3	W4
КВЧ+ТЭС	1								
ТЭС	0.759	1							
аа-инд.	-0.076	-0.138	1						
РИ10.7см	-0.028	0.106	0.458	1					
ЧП	-0.413	-0.360	-0.049	0.274	1				
W1	0.674	0.795	0.089	0.168	-0.551	1			
W2	-0.629	-0.654	-0.088	0.006	0.482	-0.928	1		
W3	0.669	0.733	0.093	0.141	-0.554	0.998	-0.949	1	
W4	0.656	0.811	0.090	0.219	-0.569	0.985	-0.851	0.973	1

Результаты статистического анализа, дают представление о корреляционной связи между векторами скорости планет, биологическими рядами, рядом ЧП и рядами геомагнитного аа-индекса и индекса РИ 10.7см. Устойчивая корреляционная связь, имеющая прогностическую ценность, наблюдается между рядами векторов скорости планет земной группы, биологическими рядами КВЧ+ТЭС и ТЭС, и чрезвычайными происшествиями на водных бассейнах.

**ВЫВОД**

В показанных результатах мы коротко коснулись возможной связи между двумя звеньями общей системы, которая на самом деле может быть более сложной, например: динамика скорости планет → цикличность солнечной активности →

цикличность магнитосферы (ионосферы) → цикличность реакций в биосфере. Перечисленные процессы прогнозированию не поддаются, исключение – динамика векторов скорости планет, гелиоцентрические координаты и скорости которых можно рассчитать с помощью эфемериды. То есть, с одной стороны, для поиска закономерностей в прошлом, динамика векторов скорости планет используется в качестве точного исследовательского инструмента. С другой стороны, в случае получения закономерностей имеющих прогностическую ценность ГМ-индекс векторов скорости, уже в качестве прогностического материала применяется для предсказания космической погоды. В этом заключается прогностический принцип.

Результаты позволяют предположить, что скорости физиологических реакций через соизмеримость частот (главное условие возникновения резонансов) имеют связь с векторами скоростей планет, при этом – скорости планет является доминирующими и синхронизирующими, а частоты реакций биосферы – подчиненными и синхронизируемыми.

При этом наиболее важными являются моменты кардинальных изменений направления скорости в перигелии и афелии, которые с высокой точностью совпадают с различными чрезвычайными событиями: социально-экономическими кризисами, разрушительными землетрясениями и т.д. (табл. 2–5).

Мы не ставим точку и не делаем окончательных выводов, показана рабочая модель, которая требует совершенствования и проверки в лабораторных условиях.

В данной работе сделана попытка строить прогнозирование, используя надежную теоретическую базу классической механики. Считаем, что данный подход открывает новые перспективы для научного прогнозирования и наиболее продуктивным сегодня может стать – междисциплинарный.

Автор признателен В.В. Румянцеву и Б.М. Владимирскому за помощь оказанную в процессе работы.

### **Список литературы**

1. Хромов С.П. «Солнечные циклы и климат». Метеорология и гидрология, 1973, №9, <http://meteocenter.net/meteolib/sun2.htm>
2. Балацкий Е.В. «Мировая экономическая наука на современном этапе: кризис или прорыв». <http://www.bg-znanie.ru/article.php?nid=33998>
3. Молчанов А.М., «Резонансы в многочастотных колебаниях». / А.М. Молчанов // «Доклад АН СССР», 1966. – том 168, №2 – С. 284-287
4. К вопросу о резонансных свойствах Солнечной системы / А.К.Панкратов, В.Я.Нарманский, Н.С. Черных [и др.] // Известия Крымской астрофизической обсерватории, 1996, Т., 93, С. 53 – 57.
5. Молчанов А.М. О резонансной структуре Солнечной системы, в кн. Современные проблемы небесной механики и астродинамики, М.1973, С. 32 – 42.
6. Блехман И. И., Синхронизация в природе и технике, М.,1981
7. Белова Н.А. , Леднев В.В., Биофизика, 2000 – Т.45, №6 – С.1102 – 1107
8. Хабарова О.В., Биоэффективные частоты и их связь с собственными частотами живых организмов. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2002, №5, с. 56-66
9. Космос и биологические ритмы / [Владимирский Б.М., Сидякин В.Г., Темуриянц Н.А. и др.] – Симферополь, 1995 – С.3-206.
10. Пресман А.С. Электромагнитные поля и живая природа, / Пресман А.С. – М., Наука, 1968, С. 3 – 288.
11. Темуриянц Н.А. Сверх низкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире / Темуриянц Н.А., Владимирский Б.М., Тишкин О.И. – Киев, «Наукова думка», 1992, С. 3 – 187.

12. Физиологические механизмы биологических эффектов низко интенсивного ЭМИ КВЧ. / [Чуян Е.Н., Темуриянц Н.А., Московчук О.Б., Чирский Н.В. и др. ] Монография. - Симферополь: ЧП "Эльиньо", 2003. - 448 с.
13. Джелдубаева Э.Р. Инфранианная ритмика болевой чувствительности крыс при воздействии низко интенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты. / Э.Р. Джелдубаева, Е.Н. Чуян // Ученые записки Таврического национального университета им В.И.Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2007. – Т.20 (59), 1. – С. 168-174.
14. Standish E.M. An approximation to the outer planet ephemeris errors in JPL's DE200 // Astron. Astrophys. vol. 233, pp. 272-274. 1990.
15. Нарманский В.Я. «Солнечная активность и планетные конфигурации. Новые возможности прогнозирования». Ученые записки Таврического национального университета им В.И.Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2007. — Т.20(59), №1. — С.175-188.
16. Нарманский В.Я. «Возвращаясь к вопросу о природе 11-летних циклов». // Ученые записки Таврического национального университета им В.И.Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2007. – Т.20 (59), №4. –С.67-73.
17. Нарманский В.Я. «Корреляционная связь погоды-климата с планетными циклами». / В.Я. Нарманский // Ученые записки Таврического национального университета им В.И.Вернадского. Серия «Физико-математические науки». – 2010. — Т.23(62), №3.

**Нарманский В.Я. Динаміка векторів планетних швидкостей і процесів в біосфері / В.Я. Нарманський // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 214-223.**

Стаття присвячена теорії та практичному використанню нового космофізичного індексу. На відміну від астрології і гірничої геомеханіки, які розглядають події в геоцентричній системі координат, основою індексу стали вектори планетних швидкостей, що розглядаються в геліоцентричній системі координат. Індекс, який отримав назву «геліомеханічеський» (ГМ) обчислюється комп'ютерною програмою написаною на основі ефемериди DE200 і застосовується, як інструмент досліджень і прогнозу біологічних, медичних, соціально-економічних та інших тимчасових рядів. Показано, що біологічні процеси мають достовірний зв'язок з динамікою векторів швидкості планет. Зроблено припущення, що швидкості планет є синхронізуючими, а ритми біосфери синхронізуючими.

**Ключові слова:** вектор швидкості, Меркурій, Марс, цикли.

**Narmanskiy V.Y. Dynamics of vectors of planetary speeds and processes in biosphere / V.Y. Narmanskiy // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 214-223.**

Article is devoted to the theory and practical application of new cosmophysical index. As against an astrology and mountain heomechanics where dynamics are considered in geocentric to system of coordinates, a basis of an index became vectors of speed of the planets, considered in heliocentric system of coordinates. The index, called "heliomechanics" (HM) calculated a computer program was written based on the DE200 ephemeris, and is used as a tool for research and prediction of biological, medical, social, economic and other time series. It is shown that biological processes have a significant correlation with the dynamics of the velocity vectors of the planets. It is suggested that the speed of the planets is synchronizing and synchronized rhythms of the biosphere.

**Keywords:** velocity vector, Mercury, Mars, and cycles.

*Поступила в редакцію 13.06.2011 г.*

**УДК 612.72:615.825**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ  
РАЙТТЕРАПИИ КАК СРЕДСТВА КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ  
АКТИВНОСТИ МОЗГА У ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ ДЦП**

*Пополитов Р.А.<sup>1</sup>, Коновальчук В.Н.<sup>2</sup>, Архангельская Е.В.<sup>2</sup>, Ченчик Ю.С.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Севастопольский Центр реабилитационной верховой езды Всеукраинского  
благотворительного Фонда «Крона», Севатополь, Украина*

*<sup>2</sup>Таврический национальный университет им. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: modul81@mail.ru*

В данном исследовании изучено влияние райттерапии на биоэлектрическую активность мозга детей 8-10 лет, страдающих ДЦП. Показано, что после курса райттерапии у детей происходят значительные положительные изменения в показателях электроэнцефалограммы. Достоверные изменения также выразались в улучшении работы мелкой моторики верхних конечностей детей.

**Ключевые слова:** детский церебральный паралич, спастическая диплегия, райттерапия, электроэнцефалограмма, индекс ритма, межполушарная асимметрия, мелкая моторика.

**ВВЕДЕНИЕ**

Среди множества нерешенных на сегодняшний день вопросов в медицинской сфере Украины, одной из наиболее острых и актуальных проблем является проблема реабилитации детей с органическим поражением центральной нервной системы. [1].

Детская инвалидность на 60–70% представлена патологией нервной системы. Ведущей же патологией нервной системы является детский церебральный паралич. Частота детского церебрального паралича по данным статистики колеблется в разных странах мира от 2,0 до 2,9 на 1000 населения, причем этот показатель не имеет тенденции к снижению [2, 3].

В Украине частота ДЦП составляет 2,5–2,6 случаев, а в разных регионах страны колеблется от 2,4 до 4,5 на 1000 детского населения, при этом спастические формы ДЦП наблюдаются у большинства больных (70–75%). В настоящее время в Украине более 35 тысяч больных, страдающих детским церебральным параличом, нуждаются в длительной реабилитации.

По данным городского отдела здравоохранения г. Севастополя, на конец 2009 г. в городе 160 детей, больных ДЦП, трое из которых имеют атонично-астатические формы, в анамнезе остальных указаны спастические формы ДЦП. Из 160 больных ДЦП до 3-х лет – 13 человек, от 3 до 6 лет – 47 человека, от 7 до 13 лет – 58 человек, от 14 до 17 лет – 42 человек. В 2009-ом году впервые оформили инвалидность вследствие ДЦП 10 человек. Частота встречаемости детского церебрального



паралича в Севастополе по состоянию на 2009 г. составляла 0,16 на 1000 населения (2,9%), в Украине – 0,31 на 1000 детей (3,83%).

Цель данного исследования – изучить влияние райттерапии на биоэлектрическую активность мозга детей, страдающих ДЦП.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В процессе проведения исследования эффективности райттерапии как метода реабилитации больных ДЦП нами были обследованы 2 группы детей 8-10 лет, имеющих в анамнезе основной диагноз «Детский церебральный паралич. Спастическая диплегия». Контрольная группа включала в себя 10 человек (3 мальчика и 7 девочек). Эти дети не принимали участия в занятиях райттерапией, а посещали занятия ЛФК на протяжении 6 месяцев три раза в неделю при продолжительности каждого занятия 30 минут. Основная группа также включала в себя 10 человек (3 мальчика и 7 девочек). Занятия данной группы детей с инструктором лечебной верховой езды проводились 2 раза в неделю в течение 6 месяцев – с мая по декабрь 2009 года – на конной базе в пос. Терновка Балаклавского района г.Севастополя. Продолжительность каждого занятия составляла 20 минут. Эта группа также посещала занятия ЛФК 3 раз в неделю, при продолжительности каждого занятия 30 минут.

Средством мониторинга качества реабилитационного процесса нами были выбраны методы электроэнцефалографии (ЭЭГ), а так же метод "шахматной доски". У детей основной и контрольной групп измерения были сняты в начале и в конце реабилитационного процесса.

ЭЭГ-исследования проводилось на 19-канальном компьютерном энцефалографе "МИЦАР ЭЭГ-03/35-201" с визуальным анализом данных спокойного бодрствования и при функциональных нагрузках (закрывание - открывание глаз, фото- и фоностимуляция, гипервентиляция в соответствии со стандартными методическими требованиями к проведению проб). Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программ Statistica - 6.0. ЭЭГ-запись проводилась по схеме биполярного отведения с большими межэлектродными расстояниями, соединения электродов в пары по сагиттальным и фронтальным линиям. Расположение электродов на голове осуществлялось по схеме "десять-двадцать".

При анализе ритмической структуры биоэлектрической активности головного мозга использовался периодометрический анализ. Были построены распределения периодов колебаний ЭЭГ правого и левого полушарий за весь сеанс. По площадям распределений в соответствующих диапазонах определялось процентное содержание (индекс) альфа-, бета-, тета- и дельта- ритмов. Коэффициент, характеризующий межполушарную асимметрию, вычислялся по разнице между распределениями периодов колебания ЭЭГ левого и правого полушарий.

Для определения клинических проявлений изменения биоэлектрических потенциалов мозга в процессе реабилитационных мероприятий мы измерили уровень развития мелкой моторики верхних конечностей у обеих групп до и после курса реабилитации методом "шахматной доски".

Статистическая обработка полученных в ходе исследования данных произведена с помощью t-критерия Стьюдента, а так же был использован корреляционный анализ Пирсона.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По окончании курса реабилитации ЭЭГ- исследование и тест на мелкую моторику показали, что у детей основной группы произошли более выраженные изменения, чем у детей контрольной группы (табл.1).

Таблица 1.

#### Сравнительные показатели биоэлектрических показателей и моторики верхних конечностей у детей основной и контрольной групп

	Основная группа		Контрольная группа	
	До курса реабилитации	После курса реабилитации	До курса реабилитации	После курса реабилитации
Индекс альфа- ритма:				
$X' \pm S_{X'}$	27,3 ± 4,42	44,4 ± 4,41	28,6 ± 3,18	32,2 ± 3,23
$t_{\Phi}$	2,74		0,8	
p	≤0,05		≥0,05	
%	62,6%		12,6%	
Индекс бета- ритма:				
$X' \pm S_{X'}$	11 ± 1,75	16,2 ± 1,6	10,6 ± 1,5	11,5 ± 1,4
$t_{\Phi}$	2,2		0,4	
p	≤0,05		≥0,05	
%	47%		8,5%	
Индекс тета -ритма:				
$X' \pm S_{X'}$	47,5 ± 4,6	27,4 ± 4,4	46,6 ± 3,9	43,8 ± 3,8
$t_{\Phi}$	3,16		0,5	
p	≤0,01		≥0,05	
%	73,4%		6,4%	
Индекс дельта- ритма:				
$X' \pm S_{X'}$	14,2 ± 2,5	10 ± 1,8	13,9 ± 1,6	12,8 ± 1,5
$t_{\Phi}$	1,4		0,5	
p	≥0,05		≥0,05	
%	42%		8,6%	
Межполушарная асимметрия:				
$X' \pm S_{X'}$	31,8 ± 1,6	20,9 ± 2,9	34,8 ± 1,5	32,9 ± 1,4
$t_{\Phi}$	3,3		0,9	
p	≤0,01		≥0,05	
%	52%		5,8%	
Мелкая моторика правой конечности:				
$X' \pm S_{X'}$	41,1 ± 4,5	35,8 ± 4,3	41,1 ± 3,5	37,3 ± 3,2
$t_{\Phi}$	0,9		0,8	
p	≥0,05		≥0,05	
%	14,8%		10,2%	
Мелкая моторика левой конечности:				
$X' \pm S_{X'}$	45,2 ± 3,96	37,8 ± 4,2	44,5 ± 3,4	42 ± 3,6
$t_{\Phi}$	1,3		0,5	
p	≥0,05		≥0,05	
%	19,6%		5,6%	

По ЭЭГ- данным, у всех детей основной группы уменьшились ирритивные процессы на корковом и стволовом уровнях, повысился порог судорожной готовности, улучшилась функциональная активность мозга и регуляторные процессы.

Наиболее видимый положительный эффект наблюдался у детей основной группы в тета- диапазоне, индекс которого снизился на 73,4% от исходного уровня, что характерно для нормализации коркового электрогенеза. У этой группы детей произошло так же снижение амплитуды тета- ритма, что говорит об уменьшении локализации и степени тяжести очаговых поражений. Снизилось количество эпилептиформных паттернов: острых волн и спайков. Однако наличие эпилептиформных очагов все же наблюдалось при повторном ЭЭГ исследовании, хотя площадь поверхности мозговой ткани, вовлеченная в патологический процесс, немного снизилась. Полученные нами результаты хорошо согласуются с литературными данными. Известно, что мощная проприоцептивная импульсация, идущая от тела движущейся лошади, стимулирует ЦНС всадника и способствует активации ее деятельности во всех направлениях – от развития психо-речевых и физических функций до нормализации судорожной активности на ЭЭГ.

Видимые изменения у детей основной группы произошли так же в альфа-диапазоне, увеличение его индекса составило 62,6% от исходного уровня, что является коррелятом спокойного бодрствования. Так же, другие авторы связывают увеличение индекса альфа ритма с повышением скорости реакции, с подъемом показателей моторной лабильности, с увеличением уровня мотивации [5].

Механизм нормализации фоновой активности на ЭЭГ у детей основной группы объясняется следующим образом: установлено, что при систематических занятиях и райттерапией в ЦНС пациента происходит ряд функциональных сдвигов на клеточном уровне, улучшающих электрическую активность мозга [5]. При езде на лошади, идущей шагом, отмечена активность корковых нейронов в ограниченных областях коры. При этом на всей остальной поверхности коры восстанавливался исходный ритм колебаний – альфа-ритм.

В процессе выполнения упражнений на лошади происходит перестройка и совершенствование функций коры больших полушарий. С ростом сложности всего занятия нормализуется амплитуда и регулярность проявления фоновой активности – альфа-ритма в состоянии покоя. При развитии способности удержания равновесия на лошади, повышается частота волн альфа-ритма, что способствует ускорению произвольных движений.

В основной группе так же довольно значительно сократился показатель межполушарной асимметрии, на 52% от исходного уровня. Это свидетельствует об уменьшении патологического активирующего влияния ретикулярной формации ствола мозга и патологической заинтересованности глубинных структур. Рядом авторов было отмечено, что в процессе езды на лошади значительно усиливается по сравнению с состоянием относительного покоя взаимосвязанность (синхронность и синфазность) электрической активности различных областей коры. Это облегчает функциональные взаимодействия между различными корковыми центрами. Процесс формирования двигательного навыка, который происходит при систематических занятиях райттерапией или реабилитационной верховой ездой, сопровождается

концентрацией взаимосвязанной активности в ограниченных зонах коры, наиболее важных для текущей деятельности. Между этими зонами устанавливается общий ритм активности. В такие характерные системы взаимодействующих корковых зон включаются не только первичные поля (моторные, зрительные и др.), но и вторичные (например, премоторные и др.) и особенно третичные поля: передние – программирующие лобные области и задние – зоны афферентного синтеза (нижнетеменные и др.). В нашем случае это объясняет такое значительное уменьшение межполушарной асимметрии у детей основной группы.[4, 6, 7].

В контрольной группе энцефалографические показатели изменились не значительно и остались практически на начальном уровне.

Для определения клинических проявлений изменения биоэлектрических потенциалов мозга в процессе реабилитационных мероприятий мы измерили уровень развития мелкой моторики верхних конечностей у обеих групп. У детей основной группы положительная динамика прослеживается более выражено, чем у детей контрольной группы. Так, время на выполнение теста на мелкую моторику для правой конечности в основной группе сократилось на 4,6% больше и на 14% больше для левой конечности, по сравнению с результатами в контрольной группе. Несмотря на то, что в результате статистической обработки существующие различия между выборочными данными до и после курса реабилитации не оказались статистически значимыми, однако улучшение показателей мелкой моторики было очевидным, оно заключалось в сокращении времени, потраченного на выполнение задания на мелкую моторику.

**Таблица 2**

**Корреляционный анализ показателей биоэлектрической активности мозга и мелкой моторики верхних конечностей**

Коррелят	Коэффициент корреляции (r)			
	Основная группа		Контрольная группа	
	Правая конечность	Левая конечность	Правая конечность	Левая конечность
Индекс альфа- ритма	- 0,6	- 0,95	- 0,98	- 0,9
Индекс бета- ритма	- 0,3	- 0,95	- 0,9	- 0,8
Индекс тета- ритма	0,6	0,9	0,9	0,9
Индекс дельта- ритма	0,2	0,9	0,3	0,5
Межполушарная асимметрия	0,4	0,9	0,6	0,6

Чтобы оценить степень зависимости показателей биоэлектрической активности мозга от показателей мелкой моторики верхних конечностей и определить, насколько тесно связаны положительные изменения в функциональной активности мозга с работой мелких групп мышц верхних конечностей, мы провели корреляционный анализ зависимости этих данных. Наиболее выраженная зависимость была обнаружена между показателями мелкой моторикой верхних конечностей и индексами альфа и тета- ритмов, а так же между показателями

межполушарной асимметрии. Это дает основание полагать, что оптимизация функциональной активности головного мозга напрямую влечет за собой улучшение работы мелкой моторики верхних конечностей.

Таким образом, полученные данные согласуются с тем, что райттерапия все же имеет преимущество над классической системой реабилитации, а также оказывает значительное влияние на функциональное состояние ЦНС [7].

Особо хочется отметить снижение индекса тета- ритма и уменьшение количества эпилептиформных паттернов у детей основной группы после курса райттерапии, что не наблюдалось у детей контрольной группы. Это позволяет говорить о том, что райттерапия не только снимает психическое состояние утомления и стресса, феномен кортикального торможения и увеличивает скорость психических процессов, но и оптимизирует морфо-функциональную организацию мозга в целом. Также райттерапия способствует значительному уменьшению не только клинических проявлений ДЦП, а и их причины – грубой и стойкой дисфункции коры больших полушарий и подкорковых структур [8, 9].

При проведении корреляционного анализа были получены следующие данные: выраженная зависимость наблюдалась в основной группе между мелкой моторикой правой конечности и индексами альфа- и тета- ритма, а так же между мелкой моторикой левой конечности и всеми показателями биоэлектрической активности. В контрольной группе выраженная зависимость наблюдается между мелкой моторикой как правой, так и левой конечности и индексами альфа, бета и тета- ритмов, а так же показателями межполушарной асимметрии. [2, 9].

Таким образом, несмотря на то, что в основной группе исходные данные изменились довольно значительно, полностью ликвидировать патологию коркового электрогенеза не удалось. Это свидетельствует о том, что райттерапия - это эффективное средство реабилитации детей, страдающих ДЦП и имеет преимущество над стандартной системой, однако при этом она не является панацеей и должна применяться комплексно с другими современными методами.

## ВЫВОДЫ

1. Проведение курса реабилитации в основной группе способствовало увеличению показателей индексов альфа- и бета- ритмов. Так, в основной группе индекс альфа- ритма увеличился на 62,6% ( $p \leq 0,05$ ), тогда, как в контрольной этот показатель составил 12,6% ( $p \geq 0,05$ ). Индекс бета- ритма в основной группе увеличился на 47% ( $p \leq 0,05$ ), а в контрольной на 8,5% ( $p \geq 0,05$ ).
2. В основной группе индекс тета- ритма снизился на 73,4% ( $p \leq 0,01$ ), а в контрольной остался практически на начальном этапе – 6,4% ( $p \geq 0,05$ ). Индекс дельта- ритма в основной группе снизился на 42% ( $p \geq 0,05$ ), а в контрольной – на 8,6% ( $p \geq 0,05$ ). В основной группе показатель межполушарной асимметрии уменьшился на 52% ( $p \leq 0,01$ ), тогда, как в контрольной группе остался, практически, на прежнем уровне – 5,8% ( $p \geq 0,05$ ).
3. Время на выполнение теста на мелкую моторику в основной группе сократилось на 14,8% ( $p \geq 0,05$ ) для правой конечности и на 19,6% ( $p \geq 0,05$ ) для левой. В контрольной группе данные изменения менее выражены: сокращение времени

выполнения теста правой конечностью составило 10,2% ( $p \geq 0,05$ ), а левой – 5,6% ( $p \geq 0,05$ ).

4. Проведение корреляционного анализа позволило определить, что мелкая моторика верхних конечностей имеет достоверную взаимосвязь с показателями биоэлектрической активности мозга.

#### Список литературы

1. Бадалян Л.О. Детская невралгия / Бадалян Л.О. – М.: Медицина, 1984. – 230 с.
2. Фишман М.Н. Нейрофизиологические механизмы отклонений в умственном развитии у детей / Фишман М.Н. – М.: Изд-во УРАО, 2001. – 202 с.
3. Лукашевич И.П. Исследование нейрофизиологических механизмов задержки психического развития у детей. / Лукашевич И.П. – Таганрог: Физиология человека, 2007. – 128 с.
4. Пополитов Р.А. Эффективность применения риттерапии как средство коррекции нарушения биоэлектрических потенциалов мозга у детей 8-10 лет, страдающих ДЦП. / Р.А. Пополитов, Ю.С. Ченчик // Севастополь: Материалы 1-ой региональной научно-практической конференции, Перспективы развития физического воспитания и спорта молодежи Севастополя, СевНТУ, 2010. – С. 27–40.
5. Бияшева З.Г. ЭЭГ-корреляты адаптации у детей, больных детским церебральным параличом с сохранным интеллектом / З.Г. Бияшева // Матер. 7-й Междисц. Междунар. Конф. по биол. психиатрии «Стресс и поведение», М. 2003. – С. 23–30.
6. Иппотерапия как средство физической реабилитации: [методическое пособие]. – Севастополь: «Рибэст», 2006. – 57 с.
7. Штраус И. Иппотерапия. Нейрофизиологическое лечение с применением верховой езды. / Штраус И. – М., 2000. – 245 с.
8. Спинк Д. Развивающая лечебная верховая езда. / Спинк Д. – С.-Петербург: МККИ, 2001. – 152 с.
9. Пополитов Р.А. Возможность применения электроэнцефалографии как средство мониторинга занятий риттерапии с детьми, страдающими ДЦП. / Р.А. Пополитов, Ю.С. Ченчик // Севастополь: Гуманитарный альманах СЭГИ ТНУ им. Вернадского, 2010. – С. 76–98.

**Пополитов Р.О. Дослідження ефективності застосування риттерапії як засіб корекції функціональної активності мозку дітей, які страждають на ДЦП / Р.О. Пополітов, В.М. Коновальчук, Є.В. Архангельська, Ю.С. Ченчик // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 224-230.**

У даному дослідженні вивчено вплив риттерапії на біоелектричну активність мозку дітей 8-10 років, які страждають на ДЦП. Показано, що після курсу риттерапії, у дітей, які його пройшли, відбуваються значні позитивні зміни в показниках електроенцефалограми при порівняльному аналізі з даними дітей контрольної групи. Дані зміни виражаються в поліпшенні роботи дрібної моторики верхніх кінцівок, що було доведено шляхом кореляційного аналізу Пірсона.

**Ключові слова:** дитячий церебральний параліч, спастична диплегія, риттерапія, електроенцефалограма, індекс ритму, міжпівкульна асиметрія, дрібна моторика.

**Popolitov R.A. Trial of rideterapy as a means of functional brain activity of children suffering from CP / R.A. Popolitov, V.N. Konovalchuk, E.V. Arkhangelskaya, J.S. Chenchik // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 224-230.**

In this study the effect rideterapy on bioelectric activity of the brain of children 8-10 years old suffering from cerebral palsy. Shown that after raytterapiyi course, in children who have it, make significant positive changes in EEG parameters in comparative analysis with data of control group children. These changes are expressed in the improvement of fine motor skills of upper extremities, which was proved by Pearson correlation analysis.

**Keywords:** cerebral palsy, spastic diplegia, rideterapy, electroencephalogram, index rate, hemispheric asymmetry, fine motor skills.

*Поступила в редакцію 11.06.2011 г.*

УДК 574.472:595.72(477.75)

## ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ ОБЗОР ПРЯМОКРЫЛЫХ (INSECTA, ORTHOPTERA) КРЫМА

*Пышкин В.Б., Высоцкая Н.А.*

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

Созданная в рамках программы *CrimInsecta* база данных по таксономии, экологии и хорологии прямокрылых (*Orthoptera*) насекомых Крыма позволила выделить энтомологические комплексы физико-географических провинций и областей полуострова, изучить их структуру и особенности формирования.

**Ключевые слова:** Крым, энтомофауна, прямокрылые, экология, ареал, жизненные формы.

### ВВЕДЕНИЕ

Отряд прямокрылых (*Orthoptera*) или прыгающих (*Saltatoria*) насекомых насчитывает около 20 тысяч видов, из которых более 100 встречается на Крымском полуострове. Эта древняя группа наземных беспозвоночных широко распространена в степных экосистемах полупустынных и пустынных ландшафтов [1, 2]. Здесь они часто являются доминирующей по численности или по биомассе группой насекомых-фитофагов [3, 4]. Прямокрылые играют важную роль в устойчивости экосистем, так как наряду с некоторыми другими группами травоядных животных (копытными и грызунами) поддерживают эндогенность механизмов, стабилизирующих биогеохимический круговорот на климаксных стадиях в сукцессионных системах травяных биомов [5]. Их роль значительно увеличивается при обеднении комплекса других травоядных животных, в частности при уменьшении численности диких копытных и ослаблении выпаса [6, 7].

Таким образом, очевидна необходимость всестороннего изучения сообществ этих насекомых в разных ландшафтных зонах полуострова. Особого внимания заслуживает группа вопросов связанных с изучением зоогеографии физико-географических провинций и областей полуострова, генезиса их фаун, в том числе и фауны прямокрылых насекомых. В отношении Крымского полуострова этот пробел, очевидно, отчасти объясняется чрезвычайным разнообразием природных условий этого региона, древностью и сложностью его орогенеза, а отсюда и возникающими трудностями при анализе формирования здесь фауны прямокрылых. Поэтому, одной из задач представленной работы, является уточнение распространения видов в регионе, установление их ареалов на полуострове, выяснение центров многообразия таксонов, определение возможных путей проникновения видов в те или иные экосистемы ландшафтов Крыма.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на кафедре экологии и рационального природопользования ТНУ в рамках проекта *BisCrim*: создание биогеоинформационной модели Крыма, с использованием геоинформационных технологий компании ESRI [8, 9], по программе *CrimInsecta*.

*CrimInsecta* - информационная система, предназначенная для сбора, хранения и объединения авторских разработок по видовому составу, экологии, хорологии и биоразнообразию насекомых Крыма [10]. Для создания базы данных программы, помимо наших сборов материала, по традиционным в энтомологии методикам, использовались материалы фондовой коллекции насекомых ТНУ, многих частных коллекций, многочисленные литературные источники. База данных по прямокрылым полуострова включает сведения о 6952 экземплярах, относящихся к 105 видам.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Зоогеографический состав фауны прямокрылых Крыма определяет, прежде всего, географическое положение полуострова который расположен на стыке умеренных и субтропических широт, находится в пределах огромного материка Евразия – практически на равном удалении от Северного полюса и экватора: широта 45° пересекает полуостров вблизи города Джанкой. Полуостров расположен в географическом фокусе - центре Причерноморья. Соединяясь с Русской равниной, он своей южной гористой окраиной далеко выдвигается внутрь Азово-Черноморского бассейна. Поэтому, здесь, как в фокусе Причерноморья сходятся границы ареалов многих средиземноморских, европейских, европейско-сибирских и среднеазиатских видов насекомых, но основу ортоптерофауны Крыма составляют виды с широкими ареалами: транспалеарктическим (15,2%) и палеарктическим (19%).

В связи со спецификой географического положения Крыма на стыке Евроазиатской и Средиземноморской подобластей биогеографической области Древнего Средиземноморья, здесь высока доля средиземноморских (15,2 %) и европейско-среднеазиатских (8,6 %) видов. Менее, представлены европейско-восточносибирский (8,6 %), южно-палеарктический (4,8 %), западно-палеарктический (4,8 %), европейский (2,8 %), южно-европейский (1,9%), восточно-европейский (0,95 %) комплексы, а также космополиты (0,95 %). Достаточно большую группу в процентном соотношении составляют эндемичные виды (13,3 %), группа с неопределенными ареалами видов составила 7,6 %. Все это говорит о том, что Крымская фауна прямокрылых формировалась в течение длительного периода, генетически очень сложна и включает всевозможные зоогеографические элементы.

Второй причиной формирования разнообразия фауны прямокрылых полуострова является то, что он имеет широкий спектр ландшафтных зон – от полупустынь и настоящих степей в Степной провинции, до широколиственных и субсредиземноморских лесов в Горной провинции. Географическое положение полуострова, сложное геологическое строение и развитие рельефа, климата, почвенного и растительного покрова – послужило основой для образования здесь большой мозаичности биотопов и сложного фаунистического узла. Благодаря



большому разнообразию и мозаичности биотопов на сравнительно небольшом по территории полуострове, многие виды насекомых находят здесь возможность крайнего своего существования.

Наличие на полуострове большой мозаичности степных экосистем обусловило широкий спектр жизненных форм прямокрылых: хортобионы (23,62%), факультативные хортобионты (17,31%), травоядные хортобионты (15,58%), фиссуробионты (11,57%), герпедобионты (11,33%), фитофилы (10,74%), открытые геофилы (6,89%), тамнобионты (4,00%), мирмекофилы (1,33%).

Несмотря на то, что прыгающие насекомые более характерны для степных экосистем, наибольшее количество видов отмечено для горной части полуострова на долю, которой приходится 1/4 площади (100 видов), и только 62 видов для его степной части занимающую 3/4 площади полуострова (табл. 1).

**Таблица 1**  
**Распределение видов отряда Orthoptera Oliver, 1789 по физико-географическим провинциям и областям Крымского полуострова**

Вид	Провинция	Степная				Горная		
	Область	А	Б	В	Г	А	Б	В
1		2	3	4	5	6	7	8
<i>Phaneroptera nana</i> Fieber, 1853		+	+	+	-	+	++	+++
<i>Tylopsis lilifolia</i> Fabricius, 1793		-	+	+	+	++	++	+++
<i>Leptophyes albovittata</i> Kollar, 1833		-	+	++	-	+++	+++	+
<i>Isophya brunneri</i> Retowskii, 1888		-	+	+	+	+++	+++	+++
<i>Isophya taurica</i> Brunner v. Wat., 1878		-	-	-	-	+	++	+++
<i>Poecilimon schmidti</i> Fieber, 1853		-	-	-	+	+	+	+
<i>Poecilimon intermedius</i> Fieber, 1853		-	-	-	-	-	+	-
<i>Poecilimo boldyrevi</i> Mirat, 1938		-	-	-	-	-	-	+
<i>Poecilimon tauricus</i> Retowskii, 1888		-	-	-	-	++	+++	++
<i>Poecilimon pliginskii</i> Miram, 1929		-	-	-	-	+++	++	+++
<i>Poecilimon bey-bienkoi</i> Tarbinski, 1932		-	-	-	-	-	-	+
<i>Poecilimon kuznetzovi</i> Miram, 1929		-	-	-	-	-	+	+
<i>Meconema thalassiba</i> Chopard, 1922		-	-	-	-	-	+	+
<i>Saga pedo</i> Pallas, 1771		+	-	+	+	+	+	+
<i>Tettigonia viridissima</i> Linnaeus, 1758		-	++	-	-	++	+	+
<i>Tettigonia caudata</i> Chopard, 1922		-	+	-	+	+	+	+
<i>Anadrymadusa retovskii</i> Adelung, 1907		-	-	-	-	+	+++	+++
<i>Paradrymadusa galitzini</i> Retowskii, 1888		-	-	-	-	+	+	+
<i>Gampsocleis glabra</i> Herbst, 1786		-	-	+	+	+	-	-
<i>Decticus verrucivorus</i> Linnaeus, 1758		-	-	-	-	-	+	-
<i>Decticus albifrons</i> Fabricius, 1775		+	++	-	+	+	-	+
<i>Montana Medvedevi</i> Miram, 1927		-	+	-	+	-	-	-
<i>Platycleis intermedia</i> Serville, 1839		+	+	+	+	+	+	+
<i>Platycleis escaleraei</i> Bolivar, 1899		-	-	-	-	+	+	+

<i>Продолжение таблицы 1</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
Platycleis grisea Fabricius,1781	-	+	-	-	+	+	-
Platycleis affinis Fieber,1853	+	++	+	+++	++	+	+
Tessellana vittata Charpentier,1825	+	+	+	+	++	+	+
Tessellana tessellata Charpentier,1825	-	-	+	-	+	-	-
Platycleis sepium Verrin,1854	-	-	+	-	-	-	+
Bicolorana bicolor Philippi,1830	+	-	+	+	+++	+++	+
Bicolorana roeselii Kagenbach,1882	-	-	+	-	+	-	+
Pholidoptera griseoptera De Geer,1773	-	-	-	-	+++	++	+
Ph. pustulipes Fisch.-Wald.,1846	-	-	-	++	+++	++	+
Conocephalus discolor Thunberg,1815	-	+	+	+	+	+	+
Conocephalus dorsalis Latreille,1804	-	-	-	+	+	+	-
Homorocoryphus nitidulus Scopoli,1786	+	+	+	-	-	-	-
Gryllus campestris Linnaeus,1758	+	+	+	+	++	+	+
Gryllus bimaculatus De Geer,1773	-	+	+	+	+	+	+
Acheta domestica Linnaeus,1758	-	-	+	+	+	+	+
Melanogryllus desertus Pallas,1771	+	+	+	-	+	+	+
Melanogryllus frontalis Fiber,1845	-	-	-	-	+	+	+
Melanogryllus burdigaleisis Latreille,1804	-	+	-	-	+	-	-
Tartarogryllus tartarus Uvarov,1934	-	-	-	-	-	-	+
Gryllomorpha dalmatina Ocskay,1832	-	-	-	-	+	+	+
Gryllomorpha miramae Medvedev,1933	-	-	-	-	+	+	+
Discoptila fragosoi Bolivar,1885	-	-	-	-	+	+	+
Pteronemobius neideni Fischer,1853	-	-	-	-	+	-	+
Pteronemobius sylvestris Borc.	-	-	-	-	+	-	-
Arachnocephalus vestitus Costa,1855	-	-	-	+	-	-	-
Myrmecophilus hirticoudus 1846	-	-	-	-	-	-	+
Myrmecophilus tatarica Karavajev,1929	-	+	-	-	+	+	+
Melanogryllus bordigoleisis Latreille,1804	-	+	-	-	+	+	+
Oecanthus pellucens Scopeli,1763	+	+	+	+	+	+	+
Gryllotalpa gryllotalpa Linnaeus,1758	-	-	-	+	+	+	+
Xya variegatus Latreille,1809	-	-	-	-	-	+	+
Tetrix subulata Linnaeus,1761	-	-	+	+	++	+	+
Tetrix nutans Hagenbach,1822	+	+	+	-	+	+	-
Tetrix bipunctata Linnaeus,1758	-	-	-	-	+	+	+
Tetrix depressa Brissen,1848	-	-	+	-	+	+	+
Asiotmethis tauricus Tarbinski,1930	-	+++	-	-	+	+	-
Podisma pedestris Linnaeus,1758	-	-	-	-	-	+	+
Anacridium aegyptium Linnaeus,1764	-	-	-	-	-	+	+
Calliptamus italicus Linnaeus,1758	+	+	+	+	++	+	+
Calliptamus barbarus Costa,1836	+	+++	+	+	+	+	++
Acrida bicolor Thunberg,1815	+	++	++	+	+	+	+

<i>Продолжение таблицы 1</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
Chrysochraon dispar Germar, 1835	-	-	-	-	-	+	-
Euthystira brachyptera Ocskay, 1824	-	-	-	-	-	+	-
Paracinema tricolor Charpent, 1825	-	-	-	-	+	-	-
Acryptera fusca Pallas, 1773	-	+	-	+	+	+	+
Paracryptera microptera F.-W., 1833	-	-	-	++	+	+	+
Paracryptera microptera jailensis Mir., 1927	-	-	-	-	+	++	+
Ramburiell turcomana F.-W., 1833	-	-	-	+	-	++	+
Dociostaurus maroccanus Thunberg, 1815	-	-	-	-	+	-	-
Dociostaurus brevicollis Evert., 1848	-	+	-	+	+	-	-
Stenobothrus lineatus Panzer, 1796	-	-	-	-	+	+	+
Stenobothrus fischeri Evert., 1848	-	-	-	-	++	++	+
Stenobothrus miramae Dirsh., 1931	-	-	-	+	+	+	+
Stenobothrus eurasius Vor., 1928	-	-	-	-	-	-	-
Omocestus viridulus Linnaeus, 1758	-	-	-	-	+	+	-
Omocestus ventralis Zetterstedt, 1821	-	-	-	-	+	+	+
Omocestus haemorrhoidalis Charpent., 1825	-	-	-	+	+	+	++
Omocestus petracus Brisout-Barneville, 1855	-	+++	-	+	+	+	+
Myrmeleotettix maculatus Thnberg, 1815	-	-	-	-	+	-	-
Stauroderus scalaris F.-W., 1846	-	-	-	-	+	+	+
Chorthippus biguttulus Linnalus, 1758	-	+	-	+	++	++	++
Chorthippus brunneus Ramme, 1939	++	+	+	+	++	++	++
Chorthippus millis Charpentier, 1825	-	-	-	-	+	+	+
Chorthippus apicarius Linnaeus, 1758	-	-	-	-	+	+	-
Chorthippus macrocerus Voronzovskij, 1928	+++	+	++	++	+++	++	++
Chorthippus pullus Philippi, 1830	-	-	-	+	+	+	-
Chorthippus vagans Everts, 1848	-	-	-	-	+	-	-
Chorthippus longicornis Latrielle, 1804	-	+	-	+	+++	++	-
Chorthippus albomarginatus De Geer, 1773	+	+	++	+	+	+	-
Chorthippus dorsatus Zetterstedt, 1821	-	-	-	-	+	-	-
Chorthippus loratus F.-W., 1846	++	+	+	+	++	+	+
Euchorthippus pulvinatus F.-W., 1846	+	+++	-	++	+++	++	++
Epacromius coerulipes Ivanov, 1887	-	+	-	-	+	-	-
Aiolopus thalassinus Fabricius, 1781	+	+++	++	+	+	-	-
Aiolopus strepens Latreille, 1804	-	-	-	+	-	-	-
Locusta migratoria Linnaeus, 1758	+	+	-	-	+	-	-
Oedaleus decorus Germar, 1817	++	+++	+	+	+	+	+
Celes variabilis Pallas., 1774	-	+	-	+	+	-	+++
Oedipoda coerulescens Linnaeus, 1758	++	+	+	+	+++	+++	++
Acrotylus longipes Charpentier, 1845	-	+++	++	-	-	-	-
Sphingonotus coerulans Linnaeus, 1767	-	+++	-	+	+	+	+
Sphingonotus djakonovi Mistshenko, 1936	-	-	-	-	+	+	+

Обозначения:

**Крымская степная провинция:**

А – Северо-Крымская низменность. Б – Тарханкутская возвышенная равнина. В – Центрально-Крымская равнинная степь. Г – Керченская холмисто-грядовая степь.

**Крымская горная провинция.**

А – Предгорная лесостепь. Б – Главная горно-лугово-лесная гряда. В – Крымское южнобережное субсредиземноморье.

**Встречаемость вида:** – не обнаружен; + очень редкий; ++ –редкий; +++ обычный.

Количественное соотношение видов в зоогеографических группах прямокрылых в экосистемах провинций различно, но имеет и некоторое сходство. Так, при сравнении зоогеографических групп Степной и Горной провинции Крыма можно выявить как сходства, так и отличия в их фаунах. Говоря о сходстве, можно сказать, что основным ядром ортоптерофауны экосистем этих провинций являются транспалеарктические (13 и 15 видов) и средиземноморские (9 и 14 видов), а наименее представлены восточно-европейские (1 и 1) и космополитные (1 и 1) виды. Различием в фауне этих провинций является количественное соотношение эндемичных (4 и 14) и европейско-среднеазиатских (5 и 9) видов. Основу фауны Горной провинции Крыма составляют хортобионты (26,79%), травоядные хортобионты (14,83%) и герпетобионты (12,92%), которые в основном представлены видами родов: *Tetrix* Latreille, 1802, *Decticus* Serville, 1831, *Pholidoptera* Wermela, 1838. Доминантные жизненные формы прямокрылых экосистем Степной провинции представлены факультативными хортобионтами (22,72%), хортобионтами (20,45%) и фитофилами, в состав которых входят виды родов *Platicleis* Fieber, 1852, *Conocephalus* Thunberg, 1815, *Calliptamus* Serville, 1831 и *Stenobothrus* Fischer, 1853. При сравнении комплексов ортоптерофауны экосистем Степной и Горной провинций полуострова индекс видового обилия по Жаккару равен: для Степной – 1,37, для Горной – 1,40, индекс сходства по Жаккару равен 55,33%, а коэффициент Серенсена – 71,25%.

Формирование комплексов прямокрылых в экосистемах Степной провинции Крыма связано с ландшафтно-географическими условиями этой части полуострова - открытые пространства, умеренно жаркий климат, полынно-типчаковые и ковыльно-типчаковые степи в сочетании с галофитными лугами. Провинция хотя и обширна, но ее рельеф, почвы и растительность довольно однообразны. Поэтому распределение жизненных форм прямокрылых в экосистемах физико-географических областей почти равномерное. Сравнение спектров жизненных форм прямокрылых в экосистемах областей Степной провинции Крыма показало, что они очень похожи.

Для Центрально-крымской равнины, с умеренно жарким с мягкой зимой климатом, характерны степные экосистемы с разнотравно-типчаково-ковыльной растительностью. Прямокрылые, этих экосистем представлены 31 видом, среди которых доминируют факультативные хортобионты (21,43%), травоядные хортобионты (17,86%) и фиссуробионты (17,86%) в основном из родов: *Poecilimon* Fieber, 1853, *Tartarogryllus* Tarbinskii, 1940 и *Calliptamus* Serville, 1831 (Таблица №1). Здесь во всех зооценозах экосистем районов преобладают настоящие хортобионты (10,71-27,27%), факультативные хортобионты (20,45-27,27%), фитофилы (10,53-17,86%), представленные родами: *Platicleis* Fieber, 1852, *Chorthippus* Fiebr, 1852, *Conocephalus* Thunberg, 1815 и *Tesselana* Leuner, 1941. Травоядные хортобионты и фиссуробионты также в некоторых экосистемах достигают значения 17,86%. Остальные разновидности жизненных форм характеризуются низким процентным содержанием, которое не превышает 13%. Доминируют в комплексе транспалеарктические (11) виды. В небольших пределах варьирует численность средиземноморских (4), южно-палеарктических (4), европейско-среднеазиатских (3), европейско-восточносибирских (3), палеарктических (2) и западно-палеарктических (2) видов.

Степные экосистемы Центрально-Крымской равнины по видовому составу прямокрылых ближе всего к экосистемам Присивашья (коэффициент сходства по Жаккару равен 60%, индекс сравнения Серенсена - 75%). Отсутствие резких границ между данными регионами и взаимопроникновением фаун во многом определяет их общность фаун.

Для Северо-крымской низменной степи, с её умеренно жарким с умеренно мягкой зимой климатом, характерны полынно-типчаковые и ковыльно-типчаковые степные, а также галофитно-луговые и солончаковые экосистемы. Ортоптерофауна этих экосистем представлена 25 видами, среди которых доминируют: факультативные хортобионты (27,27%), хортобионты (18,18%), фиссуробионты (13,63%), травоядные хортобионты (13,63%) – это представители нескольких родов: *Isophya* Brunner-Wattenю, 1878, *Melanogryllus* Chopard, 1961, *Pholidoptera* Wermaeb, 1838, *Chorthippus* Fiebr, 1852 (Таблица №1). Характерно, что в этих экосистемах нет европейских, восточно-европейских и космополитных видов. Здесь также самый маленький уровень транспалеарктических (8), палеарктических (2), средиземноморских (3), европейско-среднеазиатских (3) и южно-палеарктических (3) видов (табл. 1).

На Тарханкутском полуострове в умеренно-жарком с мягкой зимой климате формируются экосистемы петрофитных степей с дерновинно-злаковой бедно-разнотравной растительностью. Их фауна представлена 46 видами прямокрылых, среди которых доминируют факультативные хортобионты (23,63%), хортобионты (21,05%) и открытыми геофиламы (13,16%). К ним относятся виды родов: *Sphingonotus* Fiebr, 1853, *Celes* Saussure, 1884, *Epacromius* Uvarov, 1942, *Omocestus* Bolivar, 1879 (Таблица №1). Большинство видов относятся к транспалеарктическим (11 видов), палеарктическим (8), средиземноморским (4) и европейско-среднеазиатским (3) видам. Комплексы прямокрылых, в экосистемах Тарханкутского полуострова и Присивашья, представлены главным образом видами с широкими ареалами (коэффициент сходства по Жаккару равен 47,82%, индекс сравнения Серенса – 64,7%).

На Керченском полуострове с его очень засушливым, умеренно жарким, с мягкой зимой климатом формируются в основном экосистемы пустынных степей с бедноразнотравно-злаковой растительностью и экосистемы петрофитных кустарниково-разнотравно-злаковых степей. Их фауна представлена 46 видами, среди которых характерны следующие доминантные формы: хортобионты (27,27%), факультативные хортобионты (20,45%) и герпетобионты (13,64%), включающие в себя виды родов: *Tetrix* Latreille, 1802, *Stenobothrus* Fischer, 1853, *Omocestus* Bolivar, 1879 и *Platycleis* Fieber, 1852 (Таблица №1). Фауна его экосистем гораздо ближе по составу к фауне экосистем Тарханкута (коэффициент сходства по Жаккару равен 58,84%, индекс сравнения Серенсена – 67,42%), чем Присивашья (соответственно 39,2% и 56,33%). Короткий период интенсивного развития травянистой растительности, жаркое лето, солончаки – все это ограничивает развитие здесь всего комплекса прямокрылых, в котором преобладают транспалеарктические (9 видов), палеарктические (8), средиземноморские (7) и европейско-среднеазиатские (5) виды.

Экосистемы, формирующиеся в Предгорье, которое является экотонном между Степной и Горной провинциями, обладают самым большим разнообразием прямокрылых на полуострове – 83 вида. Это происходит за счёт так называемого

краевого эффекта – сочетания комплекса факторов среды различных экосистем, обуславливающее большее разнообразие условий среды, следовательно, лицензий и экологических ниш. Тем самым в экосистемах Предгорья возможно существование видов как из экосистем Степной, так и из Горной провинции, а также специфичных для экосистем экотона видов. Доминантными жизненными формами Предгорья являются хортобионты (13,12%), факультативные хортобионты (15,07%), герпетобионты (12,33%) и травоядные хортобионты (12,33%), основная часть которых относится к родам *Omocestus* Bolivar, 1879, *Chorthippus* Fiebr, 1852, *Paradrymadusa* Herman, 1874, *Poecilimon* Fieber, 1853 (табл. 1). Ядром зоогеографического комплекса здесь являются: палеарктические (16 видов), средиземноморские (13), транспалеарктические (12) и эндемики (10). Содоминантами в комплексе являются: европейско-среднеазиатские (7 видов), южно-палеарктические (5), западно-палеарктические (5), европейско-восточносибирские (4) виды.

Большим разнообразием прямокрылых (80 видов) характеризуются и экосистемы Главной горно-лугово-лесной гряды (табл. 1). В состав доминантных форм входят настоящие хортобионты (28,17%), травоядные (14,07%) и факультативные хортобионты (9,86%), герпетобионты (12,68), фитофилы (11,27%), в основном это представители родов: *Stenobothrus* Fischer, 1853, *Platicleis* Fieber, 1852, *Decticus* Serville, 1831, которые предпочитают умеренно-жаркий полувлажный климат, поляны и опушки в дубовых, буковых, смешанных широколиственных и сосновых лесах, а на яйлах - горные луговые и петрофитные степи. Доминируют в комплексе: палеарктические (17 видов), средиземноморские (11), транспалеарктические (11) и эндемики (11). Содоминантами являются: европейско-среднеазиатские (6 видов), южно-палеарктические (4), западно-палеарктические (4), европейско-восточносибирские (3) и европейские (3) виды.

Прямокрылые Южного берега Крыма представлены 73 видами. Среди которых доминируют: настоящие хортобионты (21,54%), травоядные хортобионты (18,46%), герпетобионты (13,85%). Для данного района характерно наибольшее количество мирмекофилов (3,08%), хотя в Степном Крыму они практически отсутствуют. Для данных форм характерны: жаркий климат, шибляково-можжевелово-дубовые редколесья и заросли засухоустойчивых трав и полукустарников. В комплексе преобладают средиземноморские (13 виды), эндемики (13), транспалеарктические (11) и палеарктические (11) виды. Содоминанты: европейско-среднеазиатские (5) и южно-палеарктические (4) виды.

Отсутствие четких границ между экосистемами физико-географических областей Горной провинции и взаимопроникновение их фаун обусловило большое сходство комплексов прямокрылых Предгорья и Главной горно-лугово-лесной гряды (коэффициент общности Жаккара -72,63% и индекс сравнения Серенса-84,15%), Главной горно-лугово-лесной гряды и Южного берега моря (71,91% и 83,66% соответственно). Наименьший коэффициент сходства по Жаккару (22,09), индекс сравнения Серенса (36,19%) наблюдается при сравнении фаун экосистем Присивашья и Яйл, что объясняется различиями в климатических условиях, отсутствием одинаковых кормовых растений, общих границ.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, для экосистем физико-географических областей полуострова характерен свой комплекс прямокрылых с определенным числом видов, их зоогеографическим составом и спектром жизненных форм.

## Список литературы

1. Шарова И.Х. Современное состояние и перспективные направления в развитии учения о жизненных формах в зоологии / Шарова И.Х. // Экология жизненных форм почвенных и наземных членистоногих. - М.: МПГИ, 1986. - С. 3-10.
2. Жерихин В.В. Развитие и смена меловых и кайнозойских фаунистических комплексов (трахейные и хелицерные) / Жерихин В.В. - М.: Наука, 1978. - 198с.
3. Сергеев М.Г. Закономерности распределения насекомых-фитофагов в травянистых экосистемах Голарктики / Сергеев М.Г. // Изв. АН. Сер.биол. наук, 1998. -№ 4. - С. 445-450.
4. Сергеев М.Г. Многовидовые сообщества Orthoptera основных ландшафтов Северного Алтая и опыт их классификации / Сергеев М.Г. // Ландшафтная экология насекомых. - Новосибирск: Наука, 1988. - С. 15-26.
5. Жерихин В.В. Природа и история травяных биомов / Жерихин В.В. // Степи Евразии: проблемы сохранения и восстановления.- СПб - М.: Ин-т географии РАН, БИН РАН, РБО, 1993. - С. 29-49.
6. Столяров М.В. Особенности структуры и динамики группировок прямокрылых, определяющих их роль как консументов в биоценозах / Столяров М.В. // Зоол. журнал,1976.- Т. 55. Выш. 11. - С.1640-1647.
7. Столяров М.В. Динамика потребления фитомассы группировками прямокрылых (Orthoptera) Иорского плоскогорья в Закавказье / Столяров М.В. // Энтомол. обозрение, 1979.- Т. 58, вып. 1. - С. 42-52.
8. Пышкин В.Б. Биоразнообразие Крыма: проект BisCrim / Пышкин В.Б., Тарасов Ю.Э., Рыбка Т.С. // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана.- Симферополь: Таврия, 2003.- Вып.13.-С.184-187.
9. Пышкин В.Б. ГИС-технологии в построении экологической модели Крыма: проект BisCrim / В.Б.Пышкин, Ю.Э. Тарасов // Ученые записки ТНУ. - Серия: География. Симферополь,2004.- Т.17(56).- №2.-С.156-164.
10. Пышкин В.Б. Создание региональных баз данных насекомых: проект CrimInsecta / В.Б. Пышкин, А.И. Евстафьев //Динамика научных исследований-2004.-Днепропетровск: Наука и образование, 2004. - С.26-27

**Пишкін В.Б. Еколого-географічний огляд прямокрилих (*Insecta*, *Orthoptera*) Криму / В.Б.Пишкін, Н.А. Висоцька // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. - 2011. - Т. 24 (63), № 2. - С. 231-239.**

Створена в рамках програми Criminsecta база даних по видовому складу, біології, екології і хорології прямокрилих (Orthoptera) комах Криму дозволяє виділяти їх комплекси в межах екосистем, аналізувати їхню таксономічну структуру, особливості їх екології і хорології на півострові.

**Ключові слова:** Крим, екологія, прямокрилі, ареал, життєві форми.

**Pishkin V. Ecological- geographic review of Orthoptera (*Insecta*, *Orthoptera*) of Crimea / V. Pishkin, N. Visockaya // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. - Series: Biology, chemistry. - 2011. - Vol. 24 (63), No 2. - P. 231-239.**

Created within the framework of the program Criminsecta database on taksonomii, allowed ecology and chorology of Orthoptera insects of Crimea to select the entomological complexes of fiziko-geographical provinces and areas of peninsula, study their structure and forming features.

**Keywords:** Crimea, entomofauna, pryamokrylye, ecology, natural habitat, life-form.

Поступила в редакцию 11.06.2011 г.

УДК 574.472:595.771:614.449.57

## КРОВСОСУЩИЕ КОМАРЫ УРБАНИЗИРОВАННЫХ БИОЦЕНОЗОВ И ИХ РОЛЬ В ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСОВ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

Русев И.Т., Закусило В.Н., Винник В.Д.

Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И. Мечникова,  
Одесса, Украина  
E-mail: rusevivan@ukr.net

В результате обследования различных урбанизированных биоценозов г. Одессы выявлены 13 видов кровососущих комаров. Доминирующими видами являются *Aedes caspius* (Pall., 1771), и *Culex pipiens* (L., 1758). Видами с низкой частотой встречаемости были *Aedes vexans* (Meig., 1830), *Mansonia richiardii* (Fic., 1896), *Anopheles maculipennis* (Meig., 1804), *Culex modestus* (Fic., 1890), а к категории крайне редких можно отнести виды *Uranotaenia unguiculata* (Edw., 19130) и *Anopheles hyrcanus* (Pall., 1771). В закрытых биотопах (подвалы, парадные многоэтажных домов) доминирует экологическая форма *Culex pipiens* - *Culex pipiens pipiens f. molestus*. Впервые в Украине в условиях урбанизированных биоценозов установлена инфицированность подвальных комаров *Culex pipiens pipiens f. molestus* вирусом лихорадки Западного Нила, что может значительно увеличить эпидемический потенциал возбудителя в связи с возможностью круглогодичного инфицирования людей.

**Ключевые слова:** кровососущие комары, лихорадка Западного Нила, паразитарные экосистемы, урбанизированные биоценозы.

### ВВЕДЕНИЕ

Кровососущие комары играют важную роль в трансмиссии и резервации возбудителей многих природно-очаговых особо опасных вирусных и бактериальных инфекций. В соответствии с Приказом Министра здравоохранения Украины №284 от 07.06.2004 территории административных областей Северо-Западного Причерноморья (Одесской, Николаевской и Херсонской) вошли в перечень регионов с массовым распространением гнуса и других опасных комаров и клещей.

В Украине обитает 62 вида комаров, отнесенных к 7 родам [1]. В фауне Северного Причерноморья представлены виды, характерные для степной зоны Украины. Это преимущественно голарктические и транспалеарктические виды, а также виды-космополиты с достаточно широкой экологической валентностью в отношении условий развития преимагинальных фаз и имаго. Из этой группы комары рода *Culex*, *Aedes* доминируют по численности [2]. В 60–х годах XX столетия в различных биотопах города Одессы зарегистрировано 10 видов [3]. При этом в те годы исследователи, проводившие мониторинг комаров не отмечали здесь такой вид как *Uranotaenia unguiculata* (Edw, 1913) и экологический тип комара *Culex pipiens*, Linnaeus, 1758 – *C.p.pipiens f.molestus* [3,4].

В мире известно 40 видов комаров, которые могут быть переносчиками особо опасного для человека вируса Западного Нила. В основном это представители рода



*Culex*, *Aedes* [5]. Между тем по фауне, экологии комаров и их роли в циркуляции возбудителей особо опасных инфекций в урбанизированных ландшафтах Украины, в том числе и в селитебных зонах имеются лишь фрагментарные данные.

В Одессе сформированы очаги массового круглогодичного выхлода, так называемых, подвальных комаров – *Culex pipiens pipiens f. molestus*, которые выявлены нами впервые [6]. Получив уникальные экологические возможности в результате урбанизации, эти комары способны «питаться» как на синантропных оседлых, так и на прилетевших из стран Африки перелетных птицах. Кроме того, они постоянно кусают людей, проживающих в домах с подтопленными подвалами, что создает высокий риск заражения возбудителями лихорадки Западного Нила и других комариных арбовирусов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор взрослых стадий комаров проводили с использованием эксгаустеров различной конструкции, изготовленные из стекла или пластиковых бутылок [7]. Они представляет собой стеклянный шар диаметром около 15 см. В этот стеклянный шар под прямым углом две трубки (диаметр 1,5 – 2 см.). Одна трубка (длиной 15-18 см) является ручной, за которую сборщик держит эксгауستر, другая трубка вдвинута внутрь шара приблизительно на 3 см. Наружная часть трубки также имеет длину 3-4 см. Этим концом трубки и накрывается сидящий комар. При сборах нижний конец трубки–ручки закрыт пробкой. Через этот конец комаров удаляют из эксгаустера, предварительно усыпив их табачным дымом. В один эксгауستر собирали 200 - 400 комаров. При сборах "на себя", на животном-приманке учетное время составляет 20 мин.

Для сбора и учета комаров использовали также и специальный энтомологический сачок. Этот метод, в отличие от эксгаустера, позволяет выявить в сообществе не только самок, но и самцов. Численность комаров при использовании этого метода оценивали по количеству комаров собранных при 10 взмахам сачком, диаметром 30 см [1].

При статистической обработке собранного материала вычисляли индекс обилия каждого из выявленных видов комаров – среднее число особей данного вида комаров (или группы видов), приходящееся на единицу учета.

Перед разбором на вирусологические пробы комаров анестезировали табачным дымом, определяли до вида и раскладывали в специальные пластиковые пробирки – криовалы, используемые для хранения материалов в жидком азоте. В одну пробирку помещали по 100-200 особей. Комары были исследованы методом полимеразно–цепной реакции (ОТ–ПЦР).

Материалы для данного сообщения собраны в 2005 и 2007 гг.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе обследования урбанизированных биоценозов города Одессы нами были выделены такие зоны, как: старая часть города, новая часть города, частный сектор, промышленная зона, коммунальная зона, рекреационные зоны. В 2005 году

основное внимание при обследовании было уделено старой части города и зоне расположения частного сектора, позволяющие оценить динамику соотношения численности комаров различных видов (рис. 1).

Как видно из рисунка, вылет комаров в старой части города начал регистрироваться с апреля месяца. Первым и единственным видом была *Culiseta annulata* (Schrank, 1776), причем численность этого вида была незначительной – до десятка особей при 20 минутах отлова сачком.

В мае месяце общая численность комаров в этой зоне практически не увеличилась, однако уже появился еще один вид *Aedes caspius* (Pallas, 1771), в тех же количествах, что и *Culiseta annulata*.

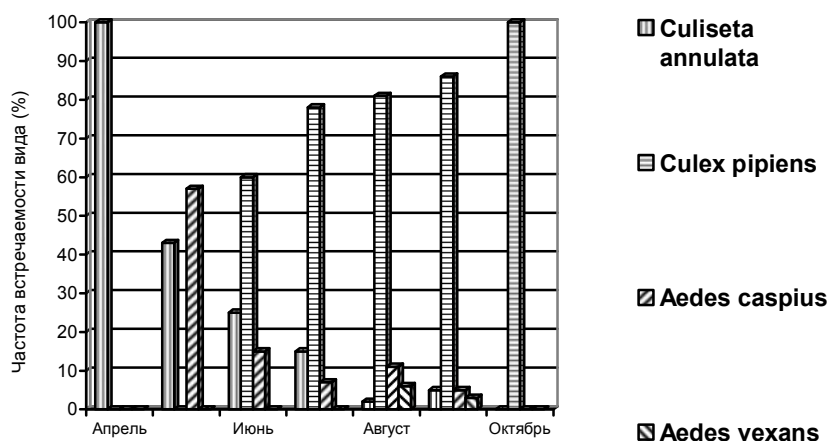


Рис. 1. Динамика соотношения видов комаров, отловленных в разные сезоны в старой части города Одессы.

Начиная с июня регистрируется уже 3 вида комаров, причем *Culex pipiens* появляется сразу в преобладающих количествах и в дальнейшем этот вид остается четко доминирующим. В августе и сентябре появляется в небольших количествах еще один вид *Aedes vexans* (Meigen, 1830), а в октябре, на фоне резкого снижения общей численности комаров, регистрируется только один вид *Culex pipiens*. Следует отметить, что в предыдущие годы последним регистрируемым видом была *Culiseta annulata*, отдельные особи которой встречались в октябре и даже в первой декаде ноября.

Наиболее полно динамика соотношения видов комаров, отловленных в различные сезоны года, выявлена в рекреационной зоне пруда Бабич (микрорайон «Новая Слободка») (рис.2).

Из приведенных на рисунке данных видно, что, как и в старой части города, доминирующим видом является *Culex pipiens* и такое выраженное доминирование сохраняется на протяжении всего лета. Однако, если в предыдущей зоне *Culiseta annulata*, появившись в апреле, в дальнейшем присутствует в очень малых количествах, то в зоне рекреации пруда Бабич она является субдоминантным видом еще в июне и, только в июле и августе ее количество резко сокращается. Начиная с сентября, в этой зоне встречаются комары, в основном, только вида *Culex pipiens* и единичные особи

*Culiseta annulata*. В целом по рекреационной зоне регистрируется 8 видов комаров 6-и родов. Однако при этом *Culex modestus* (Fic., 1890), а также представители родов *Anopheles* и *Uranotenia* встречаются крайне редко. Такое видовое разнообразие можно объяснить наличием двух относительно больших пресных водоемов и близким расположением полей биологической очистки сточных вод или полей фильтрации. По всей вероятности, именно эта зона, совместно с полями фильтрации и водоемами Дюковского парка, являются основным поставщиком комаров в старую часть города, куда они заносятся ветрами, особенно в летнее время с ночными бризами, постоянно дующими с этой зоны в направлении города.

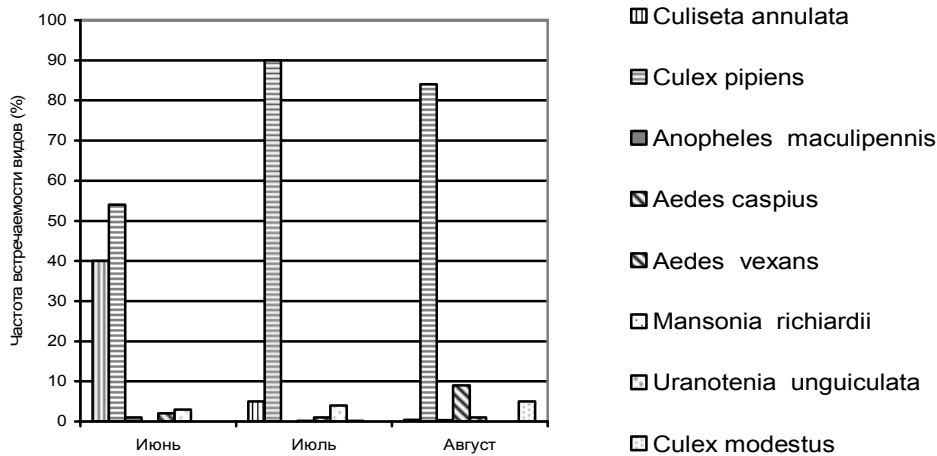


Рис.2. Динамика соотношения видов комаров, отловленных в различные сезоны в рекреационной зоне пруда Бабич

В 2006 году в открытых биотопах города Одессы было собрано и идентифицировано до вида 4765 самок комаров 12 видов, принадлежащих к 6 родам. Было установлено, что в новой части города – поселке Котовского, коммунальной зоне на полях фильтрации, и в рекреационной зоне пруда Бабич четко доминирует *Culex pipiens* соответственно  $88 \pm 7.4\%$ ,  $62.6 \pm 9.9\%$  и  $82.1 \pm 1.1\%$ . В другой рекреационной зоне – побережье лимана Куяльник этот вид составляет только  $16.7 \pm 4.7\%$ , т.е. является субдоминантным видом. Доминирующим видом был здесь комар *Aedes caspius*, составляя  $81.3 \pm 4.9\%$  в отловах. На полях фильтрации биоценоз представлен 6 видами. Причем доминирует комар *Culex pipiens*, а комары рода *Aedes* представляют субдоминантную группу (суммарно 31.8%: *Aedes cinereus* (Meigen, 1818) –  $2.1 \pm 2.1\%$ , *Aedes caspius* –  $7.7 \pm 5.5\%$  и *Aedes vexans* –  $22.0 \pm 8.5\%$ ), остальные 2 вида отловлены в единичных экземплярах.

Наиболее полно структуру биоценоза, как и в 2005 году удалось оценить в рекреационной зоне пруда Бабич (рис.3).

Как видно из приведенных данных, в мае в наблюдаемом биоценозе регистрировалось 4 вида комаров, причем доминировали представители рода *Aedes*.

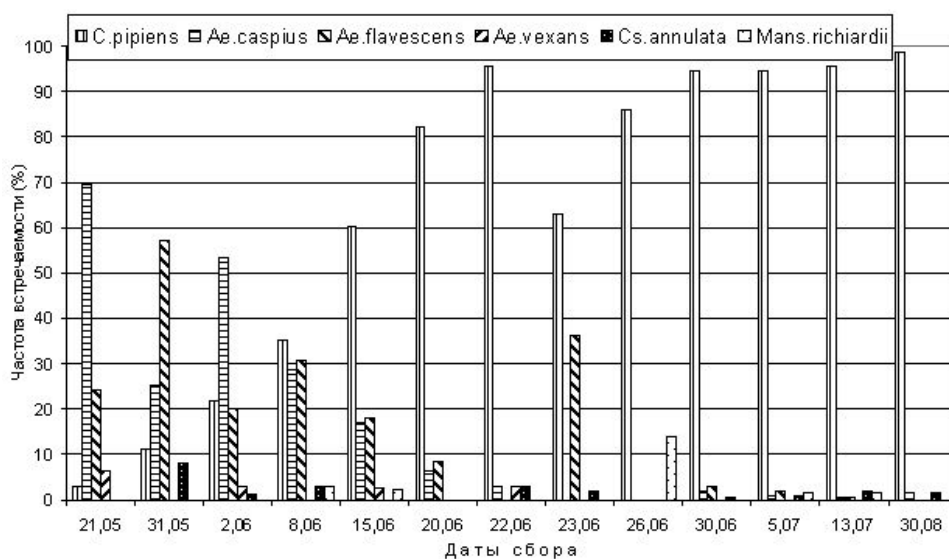


Рис.3. Динамика частоты встречаемости различных видов комаров в биоценозе пруда Бабич в 2006 г.

К концу мая – началу июня регистрируется пятый вид *Culiseta annulata* и резко возрастает доля комаров вида *Culex pipiens* – этот вид становится субдоминантным. С середины и до конца июня количество регистрируемых видов колеблется при исключительном доминировании *Culex pipiens*. С начала и по середину июля вновь отмечается всплеск видового разнообразия ценоза до 6 регистрируемых видов, однако по сравнению с *Culex pipiens*, удельный вес остальных 5 видов в ценозе незначителен. К концу июля количество видов падает до 3-х, *Culex pipiens* полностью преобладает в ценозе, а представители остальных 2-х видов: *Aedes communis* (De Geer, 1776) (доминировавший в мае-начале июня) и *Culiseta annulata* встречаются в единичных количествах. Следует отметить и тот факт, что в данной зоне мониторинга встречались (хоть и в единичных количествах) малярийные комары *Anopheles hyrcanus* (Pall.1771) и *Anopheles maculipennis* (Meigen, 1818), причем в сборах преобладали самцы.

Степень многообразия всего ценоза растет с мая по конец первой декады июня (рис.4.). Именно в момент максимального значения этого показателя произошла смена доминирования в ценозе с *Aedes communis* на *Culex pipiens*. И далее до конца июля (конец систематического мониторинга) регистрируется плавное, с незначительным возрастанием в конце июня, снижение этого показателя с нарастанием степени доминирования *Culex pipiens*.

В 2007 году в связи с особыми погодными условиями (весна с минимальным количеством осадков и небывало жаркое, засушливое лето), комаров в природных условиях города регистрировалось очень мало. В основном отлов комаров был произведен в рекреационных зонах Одессы, а также в подвалах и парадных многоэтажных жилых домов.

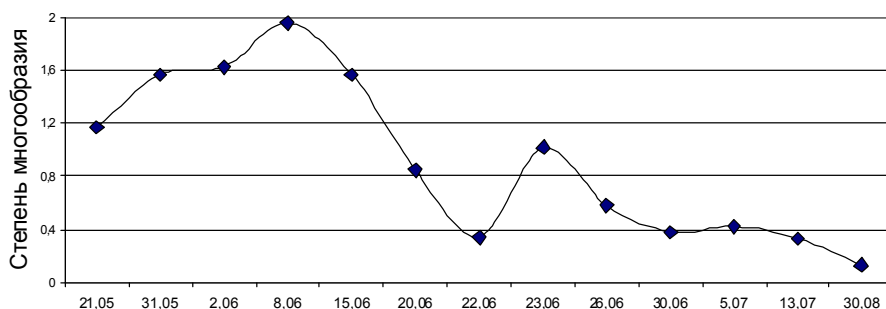


Рис.4. Динамика степени многообразия сообщества комаров на пруду Бабич в 2006 г.

В результате обследования селитебной зоны г.Одессы в парадных и подвалах многоэтажных домов были выявлены 3 вида кровососущих комаров: *Culex pipiens*, *Culiseta annulata*, и *Uranotaenia unguiculata*. Впервые для Одессы был выявлен антропофильный экотип вида *Culex pipiens* – *C.p.pipiens f.molestus*. Установлено, что неблагополучные по санитарному состоянию дома с затопленными подвалами являются местом массового обитания и выплода таких комаров. Выявлено, что выплод комаров происходит на протяжении всего года. Комары в качестве прокормителей используют крыс, массово обитающих в подвалах, сизых голубей, скворцов, а также активно нападают на человека.

Таким образом, в ходе трехлетнего мониторинга нами установлено, что, несмотря на сезонные и годовые отличия, в сообществах кровососущих комаров в среднем за год доминировал вид *Culex pipiens* двух экологических форм (*Culex pipiens pipiens f. pipiens* и *Culex pipiens pipiens f. molestus*), *Aedes caspius*. Видами с низкой частотой встречаемости были *Aedes vexans*, *Mansonia richiardii* (Ficalbi, 1889), *Anopheles maculipennis*, *Culex modestus*. Остальные виды суммарно составляли незначительное количество в отловах – менее 1% (табл.1.)

Таблица 1

Частота встречаемости кровососущих комаров по годам

Вид	Частота встречаемости (% ±Δ <sub>(95)</sub> )		
	2005 г.	2006 г.	2007
<i>Aedes cantans</i> (Meigen, 1818)	0.2±0.2	0	0
<i>Aedes caspius</i> (Pallas, 1771)	4.0±0.8	11.7±0.9	1.7±0.7
<i>Aedes cinereus</i> (Meigen, 1818)	0	0.04±0.04	0
<i>Aedes excrucians</i> (Walker, 1848)	0	0.1±0.1	0
<i>Aedes flavescens</i> (Müller, 1764)	0	6.7±0.7	0.9±0.5
<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)	1.2±0.4	0.8±0.3	0.8±0.5
<i>Anopheles hyrcanus</i> (Pall., 1771)	0	0.1±0.1	0
<i>Anopheles maculipennis</i> (Meigen, 1818)	0.2±0.1	0.04±0.04	0
<i>Culex modestus</i> (Fic., 1890)	1.6±0.5	01±0.1	0.4±0.3
<i>Culex pipiens</i> (Linnaeus, 1758)	87.9±1.3	78.0±1.2	93.0±1.4
<i>Culiseta annulata</i> (Schranck, 1776)	4.3±0.8	1.3±0.3	0.8±0.5
<i>Mansonia richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	0.7±0.3	1.0±0.3	2.4+ -0.8
<i>Uranotaenia unguiculata</i> (Edw., 1913)	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2+ -0.2
<b>Степень многообразия биоценоза</b>	<b>0.8137</b>	<b>1.1555</b>	<b>0.5586</b>

Следует отметить, что степень многообразия ценоза в 2005 году была высока, в 2006 году еще увеличилась, а степень доминирования *Culex pipiens* несколько снизилась, т.е. в благоприятных условиях растет многообразие системы. В 2007 году в условиях сильнейшей засухи многообразии ценоза резко снизилось, а степень доминирования *Culex pipiens* возросла до 93% по сравнению с 87.9% и 78% в 2005 и 2006 гг. соответственно.

### **Роль кровососущих комаров в циркуляции вирусов лихорадки Западного Нила**

Мониторинг лихорадки Западного Нила (ЛЗН) в паразитарных системах кровососущих комаров, мелких млекопитающих и птиц проводили в 2006 и 2007 гг. Подавляющее большинство (98 %) исследованных комаров относились к виду *Culex pipiens* – 7362 экз., остальные комары были представлены следующими видами *Aedes caspius* – 62 экз., *Mansonia richiardii* – 29 экз., *Culiseta annulata* – 19 экз., *Aedes flavescens* – 11 экз., *Uranotaenia unguiculata* – 2 экз., *Aedes vexans* – 2 экз., *Anopheles hyrcanus* – 1 экз. При этом 6483 экз. комаров были отловлены в подвалах и подъездах жилых многоквартирных домов и 1005 экз. – в открытых биотопах.

При исследовании комаров применяли метод полимеразно – цепной реакции (ОТ-ПЦР). При этом РНК вируса была обнаружена в 8 % проб исследованных комаров, как в открытых, так и закрытых биотопах, что может иметь эпидемиологическое значение при формировании урбанистических очагов этой инфекции. Однако вирусофорность комаров, отловленных в открытых биотопах, достоверно выше вирусофорности комаров, отловленных в подвалах и подъездах жилых многоквартирных домов ( $t=3,720$ ;  $p<0,001$ ).

Из 12 суспензий, в которых была выявлена геномная последовательность вируса ЛЗН, 10 включали в себя комаров *Culex pipiens* и 3 – *Culiseta annulata*. Следует отметить, что в последние годы орнитофильный комар *Culex pipiens* стал рассматриваться как основной переносчик вируса ЛЗН в городских очагах как в Северной Америке [8], так и в Европе [9]. Вместе с тем, исследования, проведенные в 2001-2002 гг. в Волгограде после вспышки лихорадки ЛЗН 1999-го года, показали, что участие в циркуляции вируса ЛЗН синантропного автогенного комара *Culex pipiens f. molestus*, преобладающего в подвалах и подъездах многоэтажных домов, носит локальный характер и представляет лишь дополнительный путь заражения людей в городских условиях [10]. По всей видимости подобная ситуация имеет место и в г. Одессе, когда происходит интродукция комаров (в том числе и вирусофорных) из открытых биотопов в закрытые. Свидетельством этого является достоверно более низкая вирусофорность комаров из закрытых биотопов по сравнению с открытыми, а также обнаружение РНК вируса ЛЗН у комара *Culiseta annulata*, перезимовывающего в жилом многоквартирном доме. Комары *Culiseta annulata* имеют широкий круг прокормителей, нападают на человека [11]. Другими видами – потенциальными переносчиками вируса ЛЗН в г. Одессе, возможно, могут быть комары *Aedes caspius* и *Anopheles hyrcanus*, входящие в состав РНК-позитивных пулов исследованных комаров. Однако эти данные требуют дальнейшего подтверждения.

Однако обнаружение вируса в комарах еще не означает, что они действительно являются переносчиками данного возбудителя. Компетентность (эффективность) вида членистоногого как переносчика инфекции определяется по соответствию следующим критериям: лабораторно подтвержденной способности переносить возбудитель от одного хозяина к другому, совпадению ареалов возбудителя и переносчика, многочисленности, антропофильности, длительной продолжительности жизни, уровню инфицированности популяции около 1 % [5]. Поэтому для лучшего понимания функционирования урбанистических очагов вируса ЛЗН (существование которых не вызывает сомнения) необходимо дальнейшее изучение потенциальных переносчиков с точки зрения их компетентности.

### ВЫВОДЫ

1. В открытых биотопах г. Одессы и ее окрестностей обнаружено 13 видов комаров. Доминирующими видами открытых биотопов города Одессы являются *Aedes caspius* и *Culex pipiens*. К видам с низкой частотой встречаемости можно отнести *Aedes vexans*, *Mansonia richiardii*, *An.maculipennis*, *Culex modestus*, а к категории крайне редких - *Uranotaenia unguiculata* и *Anopheles hyrcanus*.
2. Неблагополучные по санитарному состоянию дома с затопленными подвалами являются местом массового обитания и выплода комаров *Culex pipiens pipiens f. molestus*. Выплод комаров происходит на протяжении всего года, комары в качестве прокормителей используют крыс, массово обитающих в этих же подвалах, сизых голубей, а также активно нападают на человека.
3. Впервые в Украине в условиях урбанизированных биоценозов установлена инфицированность подвальных комаров *Culex pipiens pipiens f. molestus* вирусом лихорадки Западного Нила, что может значительно увеличить эпидемический потенциал возбудителя в связи с возможностью круглогодичного инфицирования людей.

**Благодарности.** Авторы выражают искреннюю благодарность лаборантам, зоологам, экологам и вирусологам УНИПЧИ им. И.И. Мечникова за содействие в сборе и обработке полевого материала.

### Список литературы

1. Шеремет В.П. Кровосисні комари України / В.П.Шеремет. - Київ: РВЦ. – «Київський університет». – 1998. – 34 с.
2. Экологические предпосылки борьбы с малярийными и другими комарами в условиях Николаевской области / О.В. Викторов-Набоков, О.В. Болгаренко, З.А. Денисова [и др.] // IX конф. паразитол. общества: тез. докл. - К, 1980. - Ч. 1. - С.121 – 122.
3. Найдич Н.Л. "К биологии кровососущих комаров Одессы". Одесская Горсанэпидстанция / Найдич Н.Л. // В кн.: Проблемы паразитологии. К.,1963. – 366 с.
4. Прендель А.Р. Сравнительно-фаунистический очерк кровососущих комаров Молдавии и смежных областей / А. Р. Прендель // Тр. II научн. конф. паразитологов УССР. - Киев, Изд-во АН УССР, 1956. –С. 252–254.

5. Goddard J. Mosquito Vector Competence and West Nile Virus Transmission / J.Goddard // *Infect Med.* - 2002. - Vol. 19, № 12. - P. 542 - 543.
6. Русев И.Т. Кровососущие комары г.Одессы / И.Т. Русев, В.Н. Закусило, Т.В. Закусило, В.А. Хайновский // Всеукраїнська науково-практична конференція "Екологія міст та рекреаційних зон": 17-19 квітня 2008 р., тез. доп. - Одеса, 2008. - С.167-169
7. Хугорецкая Н.В. Систематика, биология, сбор, транспортировка и хранение комаров / Н.В. Хугорецкая // Арбовирусы. Сб. научных трудов. Москва - 1988. - С.62 - 69
8. West Nile Virus isolates from mosquitoes in New York and New Jersey in 1999 / R.S., Nasci D.J., White H. Stirling [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* - 2001. - Vol.7, № 4. - P. 626 - 630.
9. Entomological and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitos / H.M., C. Savage, N. Ceianu Karabatsos [et al.] // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 1999. - Vol. 61, № 4. - P. 600 - 611.
10. Изучение фауны кровососущих комаров (Diptera, Culicidae) г. Волгограда в связи со вспышками лихорадки Западного Нила в Волгоградской области в 1999 г. / М.В. Федорова, Ю.В. Лопатина, Н.В. Хугорецкая [и др.] // *Паразитология.* - 2004. - № 3. - С. 209-217.
11. Василенко Н.Ф. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка в Ставропольском крае в 2002 г.: лабораторная диагностика / Н.Ф. Василенко, Е.Н. Афанасьев, И.В. Санникова, И.Н. Емельянова // *Проблемы особо опасных инфекций.* - 2003. - Вып. 86. - С. 139-148.

**Русев И.Т. Кровосисні комари урбанізованих біоценозів та їх роль у циркуляції вірусів гарячки Західного Нілу / І.Т. Русев, В.М. Закусило, В.Д. Винник // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. - 2011. - Т. 24 (63), № 2. - С. 240-248.**

В результаті обстеження різних урбанізованих біоценозів м. Одеси виявлено 13 видів кровосисних комарів. Домінуючими видами є *Aedes caspius* і *Culex pipiens*. Видами, що зустрічаються з низькою частотою є *Aedes vexans*, *Mansonia richiardii*, *Anopheles maculipennis*, *Culex modestus*, а до категорії видів, що зустрічаються дуже рідко можна віднести *Uranotaenia unguiculata* та *Anopheles hyrcanus*. У закритих біотопах (підвали, під'їзди багатоповерхових будинків) домінує екологічна форма *Culex pipiens* - *Culex pipiens pipiens f. molestus*. Вперше в Україні в умовах урбанізованих біоценозів встановлена інфікованість підвальних комарів *Culex pipiens pipiens f. molestus* гарячки Західного Нілу, що може значно збільшити епідемічний потенціал збудника у зв'язку з можливістю цілорічного інфікування людей.

**Ключові слова:** кровосисні комарі, гарячка Західного Нілу, паразитарні екосистеми, урбанізовані біоценози.

**Rusev I.T. Complex of fauna of mosquitoes in urban biocenosis and they role in circulation of west nile virus / I.T. Rusev, V.N. Zacusilo, V.D. Vinnik // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. - Series: Biology, chemistry. - 2011. - Vol. 24 (63), No 2. - P. 240-248**

The article is devoted to the 13 species of mosquitoes, living in open urban biotopes in Odessa. Among all mosquitoes was found 2 dominant species - *Aedes caspius* and *Culex pipiens*. Species with low occurring was *Aedes vexans*, *Mansonia richiardii*, *Anopheles maculipennis* and *Culex modestus*. Species with rare occurring was *Uranotaenia unguiculata* and *Anopheles hyrcanus*. In underground and free rooms on the steps place of the building 3 species of mosquitoes was found - *Culex pipiens* L., *Culiseta annulata* Schrk. and *Uranotaenia unguiculata* Edw. *Culex pipiens* L., *Culiseta annulata* Schrk. and *Uranotaenia unguiculata* Edw. Buildings with antisanitary conditions and wet undergrounds there are suitable biotops for mosquitoes and they breeding round all year. For the bites they are use human, rats and pigeons. Firstly in Ukraine in urban areas was found ecological type of *Culex pipiens* - *C.p. pipiens f. molestus* as vector of West Nile fever virus.

**Keywords:** mosquitoes, West Nile fever, ecosystems of parasites, urban areas.

Поступила в редакцію 17.06.2011 г.



**УДК 594:124:094.3(262.5)**

## **ДИНАМІКА НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ У ТКАНИНАХ ЧОРНОМОРСЬКОЇ МІДІЇ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЙОГО НАДХОДЖЕННЯ В ОРГАНІЗМ**

**Семенова О.О.**

*Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова, Одеса, Україна  
E-mail: masterkristi@rambler.ru*

Проведено порівняльне вивчення накопичення кадмію у організмі чорноморських мідій при харчовому його надходженні і при надходженні у розчинному стані. Показано, що цей важкий метал при надходженні у розчиненому вигляді з морською водою в більшій мірі накопичується в зябрах та нозі моллюска, ніж при харчовому надходженні. Характер накопичення кадмію та вміст його у тканинах практично не залежить від джерела його надходження у організм моллюска, а вміст цього металу близький. При харчовому надходженні цей метал накопичується переважно у зябрах. У гепатопанкреасі та тканинах ноги ефекту насичення кадмієм не встановлено.

**Ключові слова:** водорості, чорноморська мідія, накопичення, кадмій.

### **ВСТУП**

Кадмій відноситься до тих елементів, які у визначених кількостях є особливо токсичними для гідробіонтів різних трофічних рівнів [1, 2]. У науковій літературі зустрічається достатньо велика кількість досліджень, в яких вивчався вплив солей важких металів, зокрема кадмію, на фізіологічні та біохімічні процеси в організмі мідій. Вивчалися окремі процеси метаболізму вуглеводів, ліпідів і білків, роль тіолово-вмісних сполук у реалізації дії важких металів на організм [3], дія солей важких металів на травну систему мідій [4], встановлені деякі адаптивні процеси та їх механізми за дії важких металів [5, 6], пропонується також використовувати реакції мідії у системі біомоніторингу морського середовища [7]. Окремі аспекти особливостей накопичення кадмію чорноморськими мідіями за дії солей важких металів практично не вивчені [8, 9]. Праць, присвячених накопиченню важких металів при їх надходженні у організм мідії з їжею, в літературі немає, тому не представлялося можливим провести порівняння процесів накопичення важких металів, зокрема кадмію, при їх надходженні у організм з їжею та у розчинному стані.

Метою нашого дослідження було вивчити особливості накопичення в організмі чорноморських мідій одного з найбільш токсичних важких металів – кадмію при його надходженні у організм з морської води та з їжею.

### **МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Дослідження проводили на чорноморських мідіях *Mytillus galloprovincialis* Lam. чорної морфи розміром 3,5–4,0 см. Після відлову моллюски на протязі однієї

години транспортувалися у лабораторію, де містилися у акваріум. Після періоду адаптації (5 діб) мідії використовувалися для експериментування у лабораторних умовах. Споживчими факторами були три види водоростей різних систематичних груп: *Dunaliella salina* Teod., *Thalassiosira pseudonana* (Hustedt) Hasle et Heimdal та *Pavlova lutheri* (Droop) Green.

Для експериментування використовували хлорид кадмію у концентраціях  $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $10,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ . На протязі гострого експерименту (3 доби) вода у акваріумах, де проходило культивування не змінювали. Кількість повторних варіантів у кожній серії дослідів складала 8–10.

У першій серії дослідів вивчали накопичення кадмію у клітинах водоростей, які використовувались як споживчі фактори. У середовище, де культивувалися водорості, клітини яких не містили кадмію, вводили сіль кадмію до концентрації:  $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $10,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ , - після чого визначили вміст цього металу в акваріумах.

У другій серії дослідів мідії по одній вносили у профільтровану морську воду та годували водоростями, які були попередньо експоновані у воді з хлоридом кадмію відповідної концентрації. Водорості, які використовувались як споживчі фактори були у такій чисельності, щоб кількість кадмію у них відповідала певному визначаємому вмісту, його при різних концентраціях  $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ;  $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $10,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ .

Вміст кадмію у водоростях та чорноморських мідіях, після ліофілізації певних зразків, визначали за допомогою полум'яного фотометру. Результати дослідження представляли середні величини з їх середніми похибками ( $M \pm m$ ). Отримані цифрові дані опрацьовані з розрахунку 1 мідія на 1л морської води, з використанням метода Стьюдента [10].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

При проведенні досліджень передусім вивчали: динаміку накопичення кадмію у клітинах трьох видів водоростей різних систематичних груп за різних концентрацій хлориду кадмію у морській воді. Результати цього дослідження приведені на Рис. 1.

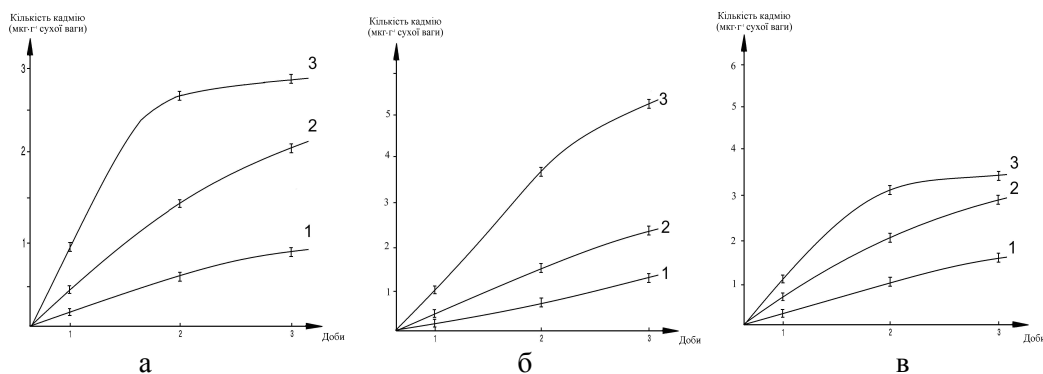


Рис. 1. Динаміка накопичення кадмію у клітинах *D. salina* (а), *Th. pseudonana*: (б), *P. lutheri*: 1 – концентрація  $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ , 2 – концентрація  $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ , 3 – концентрація  $10,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ .

Різниця вірогідна у порівнянні з контролем при  $P \leq 0,05$

Приведені дані свідчать, що характер накопичення кадмію в усіх вище згаданих видів водоростей аналогічний, має лінійний характер та його відмінності лише кількісні. Було встановлено, що максимальна концентрація хлориду кадмія викликає ефект насичення клітин водоростей кадмієм на 2–3 добу експерименту ( $P \leq 0,05$ ).

Дослідження з водоростями мали допоміжний характер та були необхідні для з'ясування кількостей кадмію у клітинах водоростей з метою подальшого їх використання для харчування мідій, враховуючи при цьому відомі кількості цього металу, які надходять у організм молюска. Отримані результати допоміжних досліджень дали можливість дозувати кількості кадмію, що надходили у організм мідій з їжею.

Результати дослідів по вивченню накопичення кадмію у тканинах чорноморських мідій представлені на Рисунку 2.

Отримані дані свідчать, що при найменшій та середній концентраціях  $CdCl_2$  у морській воді спостерігалось лінійне збільшення вмісту кадмію у гепатопанкреасі мідій при збільшенні часу експонування з 1 до 3 діб. При найбільшій концентрації хлориду кадмія ефект насичення тканин був відмічений протягом другої доби експонування (рис. 2).

Як видно із даних, наведених на Рис. 2, тільки найменша концентрація хлориду кадмію викликала лінійне збільшення кількості кадмію. Більші концентрації протягом другої доби приводили до ефекту насичення тканини зябр кадмієм. Протягом третьої доби дослідів вміст цього металу у зябрах при усіх досліджуваних концентраціях був близьким. Характер накопичення кадмія у нозі мідій був таким як у зябрах. При використанні концентрації  $10,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$  протягом третьої доби був встановлений ефект насичення тканин кадмієм (рис. 2).

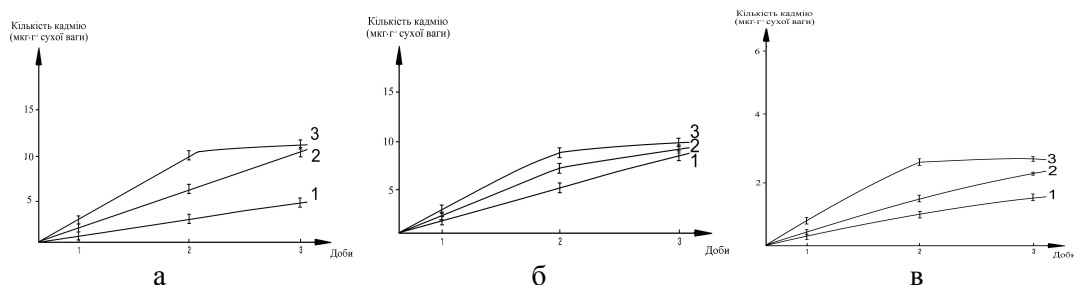


Рис. 2. Динаміка накопичення кадмію в гепатопанкреасі (а), зябрах (б) та нозі (в) мідій при його надходженні з морською водою

1 – концентрація  $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ , 2 – концентрація  $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ , 3 – концентрація  $10,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ .

Різниця вірогідна у порівнянні з контролем при  $P \leq 0,05$

У випадках при надходженні кадмію з їжею у гепатопанкреасі залежність кількості накопиченого кадмію від часу має лінійний характер та не залежи від дози кадмію. Ефекту насичення тканини гепатопанкреаса кадмієм не було встановлено (рис. 3, а).

У зябрах мідій при надходженні кадмію з їжею накопичуються невеликі кількості цього металу. Найменша його доза веде до його лінійного збільшення при збільшенні часу експозиції. Більші дози металу викликають ефект насичення тканин зябр протягом другої доби (доза  $1,0 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ) та першої доби (доза  $10,0 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ). Протягом третьої доби кількість кадмію у зябрах не залежала від використаної його дози  $P \leq 0,05$  (рис. 3, б).

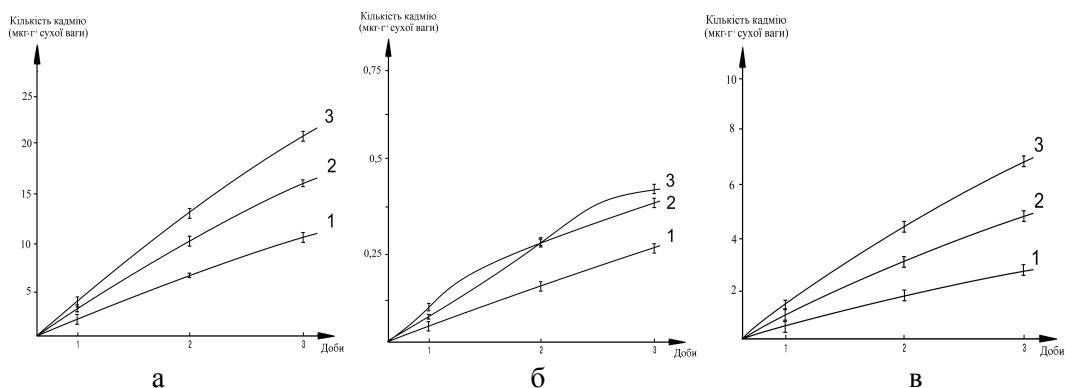


Рис. 3. Динаміка накопичення кадмію мідіями при його надходженні з їжею (у гепатопанкреасі (а) - споживчий фактор *D. Salina*, зябрах (б) - споживчий фактор *Th. Pseudonana*, та у нозі (в) – споживчий фактор *P. lutheri*)

1 – концентрація  $0,1 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ , 2 – концентрація  $1,0 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ , 3 – концентрація  $10,0 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$

Різниця вірогідна у порівнянні з контролем при  $P \leq 0,05$

У нозі мідій накопичення кадмію проходило лінійно на протязі трьох діб експериментів при всіх досліджуваних дозах цього металу. Ефекта накопичення кадмією цією тканиною встановлено не було  $P \leq 0,05$  (рис. 3,в).

Аналіз результатів проведеного дослідження накопичення кадмію у тканинах чорноморської мідії за різних умов його надходження в організм – при харчовому надходженні та надходженні у розчиненому виді з морської води – свідчить про існування різних механізмів розподілу цього металу.

### ВИСНОВКИ

1. При харчовому надходженні кадмію цей метал накопичується переважно у зябрах мідій. У гепатопанкреасі та тканинах ноги ефекту насичення кадмієм встановлено не було.
2. При надходженні кадмію у розчиненому виді вміст його у зябрах і у нозі мідій був близьким, а характер накопичення – аналогічним.
3. Динаміка накопичення кадмію у тканинах мідій при його надходженні з їжею має лінійний характер. При надходженні цього металу у розчиненому вигляді при високих концентраціях спостерігається ефект насичення.

## Список літератури

1. Линник П. Н. Тяжёлые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции/ П. Н. Линник // Гидроб. журн. – 1999. – Т. 35, № 1. – С. 22-39.
2. Мур Ж.В. Тяжелые металлы в природных водах / Ж.В. Мур, С. Рамамути. – М.: Мир, 1987. – 285 с.
3. Da Ros L. Biomarkers and trace metals in the digestive gland of indigenous and transplanted mussel *Mytillus galloprovincialis* in Venice Lagoon, Italy / L. Da Ros, C. Nasci, I. Marigomez, M. Soto // Mar. Environ. Res. – 2000. – Vol. 50. – P. 417-423.
4. Челонин В. П. Биохимические механизмы адаптации *Mytilus trassullus* к ионам кадмия и меди / В. П. Челонин, Н. Н. Бельчева, М. В. Захарцев // Биология моря. – 1998. – Т. 24. – № 5. – С. 319-325.
5. Conesi L. Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues/ L. Conesi, A. Viarengo, C. Leonzio, M. Filipelli, G. Gallo // Aquat. Toxicol. – 1999. – Vol. 46, № 1. – P. 67 – 76.
6. Khessiba A. Biochemical response of the mussel *Mytillus galloprovincialis* from Birerta (Tunisia) to chemical pollutant exposure / A. Khessiba, P. Hoaran, N. Gnassia-Barelli, P. Asissa // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 2001. – Vol. 40. – № 2. – P. 222-229.
7. Regoli F. Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland at the Mediterranean mussel *Mytillus galloprovincialis* / F. Regoli // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 1998. – Vol. 34, №1. – P. 48-63.
8. Romeo M. Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean / M. Romeo, P. Hoaran, G. Garello, M. Gnassia-Barelli, J. P. Girard // Environ. Pollut. – 2003. – Vol. 122. – № 3. – P. 369 – 378.
9. Livingstone D. R. Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussels *Mytillus edulis* / D. R. Livingstone, F. Lips, P. Garsia Martinez, R. K. Pipe // Mar. Biol. – 1992. – Vol. 12, № 2. – P. 265-276.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М. : ВЫСШАЯ школа. 1990. – 362 с.

**Семенова О.А. Динамика накопления кадмия в тканях черноморской мидии при разных условиях его поступления в организм / О.А. Семенова // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С.249-253**

Проведено сравнительное изучение накопления кадмия в организме черноморских мидий при его попадании с пищей и с морской водой. Показано, что этот тяжелый металл при попадании с морской водой в большей степени накапливается в жабрах и ноге, чем при попадании с пищей. При этом характер его накопления и содержания в тканях практически не зависит от источника его поступления в организм моллюска. При попадании с пищей этот металл накапливается в жабрах. В гепатопанкреасе и тканях ноги эффекта насыщения кадмием установлено не было.

**Ключевые слова:** водоросли, черноморская мидия, накопление, кадмий.

**Semenova O.O. Study of cadmium accumulation in tissues of Black Sea mussel at the different ways of organism entering / O.O. Semenova // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 249-253.**

The compare of cadmium accumulation to the Black Sea mussels organisms depending on the way . - of intake (with food and from water environment) have been done. The main quantity of this heavy metal were accumulated in the leg and branchiae of mussel in condition of soluble state as opposed to the condition of nutritional intake. The characteristics of cadmium accumulation and his content in the tissues practically did not depend on the source of his entering organism of shellfish. In the condition of nutritional intake cadmium was accumulated in the tissues of branchiae. There were no effect of cadmium satiation in the tissues of hepatopancreas and leg of mussels.

**Keywords:** algae, the Black Sea mussel, satiation, cadmium.

*Поступила в редакцию 11.06.2011 г.*

УДК 582.261.1:556.028 + 569.5(262.5)

## ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В БАСЕЙНАХ С МОРСКИМИ МЛЕКОПИТАЮЩИМИ

Смирнова Л.Л.<sup>1</sup>, Бабич И.И.<sup>2</sup>, Аннинская И.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИЦ «Государственный океанариум», Севастополь, Украина

<sup>2</sup>Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина  
E-mail: inik48@inbox.ru

Проведено сравнительное изучение видового и количественного состава доминирующих видов и родов микроводорослей, развивающихся в естественной и хлорированной морской воде бассейнов с дельфинами афалина (*Tursiops truncatus ponticus* Varabash 1940). Показана сезонная динамика нарастания биомассы бактериально-водорослевого обрастания стенок бассейна при содержании дельфинов в естественной морской воде.

**Ключевые слова:** дельфины афалина, бассейновое содержание дельфинов, естественная морская вода, хлорированная морская вода.

### ВВЕДЕНИЕ

В океанариумах и дельфинариях Украины морские млекопитающие содержатся в бассейнах, заполненных естественной или искусственной морской водой. В процессе жизнедеятельности животных в воде бассейна накапливаются неорганические соединения азота и фосфора, растворенное органическое вещество, наблюдается активный процесс образования взвеси [1]. В результате замедленного водотока и накопления биогенных элементов в бассейнах создаются условия, благоприятные для развития микроводорослей, что ухудшает качество воды. Альгофлора развивается не только в толще воды, на стенках и дне бассейна, но и на кожных покровах морских животных. Исследования, проведенные в бассейнах с естественной черноморской водой в Карадагском заповеднике и Государственном океанариуме (б. Казачья, г. Севастополь), показали, что в составе микроальгофлоры кожных покровов дельфинов афалин доминируют представители отдела Bacillariophyta [2, 3]. Отмеченные виды диатомей широко распространены на открытых прибрежных участках Черного моря [4].

Для обеззараживания воды в бассейнах и борьбы с развитием микроводорослей используют различные физико-химические методы обработки воды, которые не вредят здоровью морских млекопитающих. К таким методам относятся ультрафиолетовое и ультразвуковое облучения, хлорирование и озонирование морской воды, добавление в воду бассейнов биоцидных соединений серебра [5–7], использование нетоксичного бесцветного тонкослойного покрытия на основе перхлорвинилового полимера и соединений хлора [8]. В бассейнах большинства океанариумов Украины чаще всего используется метод хлорирования естественной

или искусственной морской воды. При замкнутом цикле циркуляции воды в бассейне, хлорирование проводят с помощью специальных установок для электролизного хлорирования морской воды [9], или более простым методом - периодическим добавлением в воду определенного объема концентрированного раствора гипохлорита натрия. При хлорировании концентрация активного хлора в воде бассейнов, не должна превышает 0,3–0,8 мг/л, что считается безопасным для здоровья дельфинов.

Однако, исследованиями [10] показано, что при концентрации активного хлора 0.3–1.0 мг/л микроводоросли не погибают. Адаптация микроводорослей в хлорированной воде сопровождается изменениями в фотосинтезирующем аппарате и замедленным развитием. Поэтому на стенках бассейна и частичках взвеси постепенно формируется бурая пленка микроводорослей и бактерий, которые способны сохраняют жизнедеятельность при повышении концентрации активного хлора до 7–8 мг/л [11]. Представляет интерес сравнить видовой состав микроводорослей в бассейнах с естественной и хлорированной морской водой, которая обогащена органическими и неорганическими соединениями азота и фосфора.

Цель работы – изучить сезонную динамику биомассы микрообрастания стенок бассейна с естественной морской водой и показать влияние водообмена и хлорирования на количественный и видовой состав микроводорослей-доминантов в толще воды бассейна с дельфинами афалина.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Микроальгофлору изучали в бассейнах с естественной морской водой (Государственный океанариум, б. Казачья, г. Севастополь) и хлорированной морской водой (пгт Партенит, г. Ялта). В бассейне (водоизмещение 1800 м<sup>3</sup>) с естественной морской водой ежедневно обновлялось 20–25 % ее объема путем подачи свежей морской воды через патрубки, расположенные на дне бассейна. Полную замену воды, очистку стенок и дна бассейна проводили через каждые 15 сут. В бассейне (водоизмещение 1200 м<sup>3</sup>) с хлорированной морской водой, циркулирующей без замены в течение 2–3 мес, концентрацию активного хлора поддерживали в пределах 0.3–0,5 мг/л.

Для изучения видového состава микроводорослей в бассейнах, пробы отбирали с трех горизонтов – поверхностного (0.2 м), придонного (8.0 м) и промежуточного (1.5 м) – в период с марта по июль 2004, 2005 и 2008 г.г., при температуре воды в бассейне 14–18 °С. Пробы концентрировали на воронке обратной фильтрации с использованием нуклеопоровых фильтров, диаметр пор 1 мкм [12]. Всего обработано 40 проб из бассейна с хлорированной морской водой и 80 – из бассейна с естественной морской водой. Идентификацию микроводорослей до вида или рода проводили по [4].

Микрообрастание в бассейне с естественной морской водой изучали на стеклянных пластинках размером 5x10 см (площадь обрастания 100 см<sup>2</sup>). Такие же пластинки выставляли в море на глубине 1,5 м в районе прибрежных вольеров с афалинами (постановку и снятие пластинок проводили одновременно с заполнением и сменой воды в бассейне). Биомассу бактериально-водорослевого обрастания определяли гравиметрически после подсушивания фильтровальной

бумагой оброста, снятого с пластинки. Кроме того, в зимний и летний сезоны, в момент полной замены воды в бассейне, определяли биомассу микрообрастания, снятого со стенок бассейна (площадь участков 1 м<sup>2</sup>).

В суспензии, приготовленной в 10 мл стерильной морской воды и 0.5–1.0 г бактериально-водорослевого обрастания, определяли численности гетеротрофных бактерий (ГБ) и диатомовых водорослей (ДВ). Численность ГБ определяли методом глубинного посева в плотную белково-агаровую среду [13]. Численность диатомей определяли прямым счетом в камере Горяева с использованием светового микроскопа «Биолам» [14]. Сезонную динамику нарастания биомассы бактериально-водорослевого обрастания в море и бассейне с естественной водой изучали в течение 2005–2007 г.г.

Исследования проводили при содержании в бассейнах двух и трех животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При содержании в бассейне нескольких дельфинов происходит обогащение воды метаболитами животных [15]. Постоянное присутствие в воде неорганических соединений азота (аммония, нитритов, нитратов) и фосфора, замедленный водообмен и температурный режим создают благоприятные условия для развития микроводорослей, бактерий и простейших в толще воды, на взвеси, дне и стенках бассейна. Споры и единичные клетки микроводорослей попадают в бассейн из остатков бактериально-водорослевого обрастания, поступают с морской водой при заполнении бассейна. За весь период наблюдений определены микроводоросли, относящиеся к отделам: Bacillariophyta – 9 видов, 8 родов; Ruggophyta – 2 вида, 5 родов; Chrysophyta – 1 вид, 1 род. В таблице 1 приведен видовой и количественный состав доминирующих микроводорослей, развивающихся как в естественной, так и в хлорированной морской воде бассейнов.

### 2.1. Бассейн с естественной морской водой

Вегетация микроводорослей в толще воды и на стенках бассейна особенно активна в период с мая по октябрь. В промежуточном (1,5 м) и поверхностном слоях воды встречались одинаковые по видовому составу ассоциации ДВ. В основном это представители родов *Amphora*, *Navicula*, *Nitzschia*. Однако плотность клеток диатомей характеризовалась выраженной стратификацией по глубинам. В поверхностном слое численность ДВ изменялась от  $4.5 \cdot 10^6$  до  $7.5 \cdot 10^6$  кл/мл, что в 5–10 раз выше, чем в придонном слое и толще воды (табл. 1).

На численность и состав микрофлоры большое влияние оказывал водообмен в бассейне. При его отсутствии в течение нескольких недель, происходило “цветение” воды. Массовыми видами, вызвавшими “цветение” воды в бассейне, оказались нитчатые ДВ. Длина цепочек представителей некоторых видов рода *Synedra* достигала 100–165 мкм. Численность доминирующей водоросли *Skeletonema costatum* возрастала до  $1.1 \cdot 10^9$  кл/л. В придонном слое воды появились динофлагелляты и коколитофориды, их численность достигала 50–210 кл/л. Представители родов *Gymnodinium* и *Gyrodinium*, отмеченные в бассейне, относятся к мелким теневым формам динофлагеллят, которые способны питаться бактериями и частицами детрита [16]. В суспензии детритного осадка (на глубине 8 м)



**ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ...**

доминировали представители только 4 видов диатомей (табл. 1). Длина цепочек некоторых видов рода *Synedra* возростала и достигала 138–188 мкм.

**Таблица 1**  
**Микрофлора бассейнов с морскими млекопитающими (весенний сезон)**

Характеристика среды в бассейне	Характер водообмена	Место отбора пробы	Доминирующие роды и виды микроводорослей	Плотность клеток
1	2	3	4	5
Естественная морская вода с 2 – 3 дельфинами	Полная замена воды каждые 7 суток	Стенка бассейна	<b>Bacillariophyta:</b> <i>Synedra fasciculata</i> (Ag.) Kutz. <i>Thalassionema nitzschioides</i> (Grun.)	$9,6 \cdot 10^5$ кл/м <sup>2</sup>
Естественная морская вода с 2 – 3 дельфинами	Полная замена воды каждые 7 суток	Толща воды и придонный слой бассейна	<b>Bacillariophyta:</b> <i>Amphiprora</i> sp. <i>Amphora</i> sp. <i>Navicula</i> Bory. <i>Nitzschia</i> sp. <i>Stauroneis constricta</i> (Ehr.) Cl. <i>S. fasciculata</i> (Ag) Kutz. <i>T. nitzschioides</i> (Grun.)	$\Sigma 1,0 \cdot 10^6$ кл/л
Хлорированная морская вода с 2 дельфинами	Циркуляция морской воды в течение нескольких месяцев	Толща воды	<b>Bacillariophyta:</b> <i>Amphora</i> sp. <i>Navicula</i> Bory. <i>Nitzschia</i> sp. <i>Thalassiosira parva</i> Pr-Lavr. <b>Dinophyta:</b> <i>Prorocentrum cordatum</i> (Ostenf.) Dodge <i>Glenodinium</i> sp.	2,5 – $3,0 \cdot 10^4$ кл/л
Естественная морская вода, без животных	Застойные условия, отсутствие протока и замены воды в течение 4 недель	Толща воды	<b>Bacillariophyta:</b> <i>Achnanthes breviper</i> Ag. <i>Nitzschia</i> sp. <i>Skeletonema costatum</i> (Grev.) Cl. <i>Synedra</i> sp. <i>S. fasciculata</i> (Ag) Kutz. <i>T. nitzschioides</i> (Grun.) <b>Dinophyta:</b> <i>Oxytoxum</i> sp. <i>Gymnodinium</i> sp. <i>Gyrodinium pinque</i> Swery (Schutt) Kofoid & Swery <b>Chrysophyta:</b> <i>Coccolithus</i> sp.	$\Sigma 2,3 \cdot 10^9$ кл/л
		Придонный слой бассейна	<b>Bacillariophyta:</b> <i>Navicula</i> sp. <i>S. costatum</i> (Grev.) Cl. <i>S. fasciculata</i> (Ag) Kutz. <i>T. nitzschioides</i> (Grun.)	$\Sigma 4,2 \cdot 10^9$ кл/л

На стенках бассейна, как и на любой твердой поверхности в море, развивается устойчивая пленка микрообрастания [13]. Биомассу микрообрастания формируют ГБ и ДВ, продуцирующие вещества полисахаридной природы. Численность ГБ – основных биодеструкторов органического вещества, в микрообрастании пластин как в море, так и в бассейне, примерно одного порядка (табл. 2).

**Таблица 2**  
**Характеристика микрообрастания стеклянных пластин в различных экологических условиях (экспозиция – 7 сут)**

Время отбора проб	Море			Бассейн		
	Влажная биомасса, г/м <sup>2</sup>	Гетеротрофы, кл/м <sup>2</sup>	Диатомей, кл/м <sup>2</sup>	Влажная биомасса, г/м <sup>2</sup>	Гетеротрофы, кл/м <sup>2</sup>	Диатомей, кл/м <sup>2</sup>
Август 2005 г.	25.0±8.5	2.8·10 <sup>8</sup>	2.4·10 <sup>7</sup>	3.8±0.9	2.5·10 <sup>8</sup>	3.6·10 <sup>6</sup>
Октябрь 2005 г.	30.3±6.5	3.4·10 <sup>7</sup>	4.3·10 <sup>7</sup>	3.9±1.1	2.6·10 <sup>7</sup>	5.0·10 <sup>5</sup>
Январь 2006 г.	19.0±5.1	8.1·10 <sup>9</sup>	8.1·10 <sup>9</sup>	1.4±0.4	5.8·10 <sup>8</sup>	4.9·10 <sup>6</sup>

Однако численность ДВ в микрообрастаниях, развившихся в различных экологических условиях, значительно отличалась. В бассейне она в 100–1000 раз ниже, чем в море (см. табл.2). По-видимому, одним из факторов, лимитирующим развитие диатомей в бассейне, является недостаток солнечного света, проникающего в толщу воды. Недостаток освещения особенно чувствителен в зимний период, когда наблюдалась максимальная разница в численности диатомей, составляющих основную долю биомассы микрообрастания. Динамика биомассы обрастания стенок бассейна в течение одного цикла после его заполнения естественной морской водой приведена в Табл.3.

**Таблица 3**  
**Биомасса бактериально-водорослевого обрастания стенок бассейна (в присутствии 2 дельфинов)**

Время после замены морской воды в бассейне, сут	Сухая биомасса, г / м <sup>2</sup>	
	Зима, T <sub>воды</sub> (14–16)°C	Лето, T <sub>воды</sub> (16–18)°C
1	0.07 ± 0.01	0.19 ± 0.07
3	0.13 ± 0.04	0.27 ± 0.09
5	0.12 ± 0.04	0.34 ± 0.11
10	0.36 ± 0.12	0.48 ± 0.17
15	0.45 ± 0.18	0.67 ± 0.24

Биомасса значительно возрастала в течение первых и последних суток после замены воды в бассейне. Влажная биомасса оброста стенок бассейна, несмотря на недостаток солнечного света, может достигать  $5.0 \text{ г/м}^2$  в зимний период и возрастать до  $7.0 - 10.0 \text{ г/м}^2$  летом.

## 2.2. Бассейн с хлорированной естественной морской водой

В хлорированной воде, циркулирующей в бассейне без замены в течение нескольких месяцев, наблюдалось перераспределение концентраций окисленных и восстановленных соединений азота. В бассейне с животными отмечено [1] высокое содержание фосфатов ( $1.3-3,0 \text{ мг/л}$ ) и преобладание нитратов – окисленной формы азота. Качественные и количественные изменения в составе биогенных соединений и присутствие сильного окислителя – активного хлора (до  $0,5 \text{ мг/л}$ ), оказали влияние на качественный и количественный состав микроводорослей (см. табл. 1). Плотность клеток диатомей уменьшилась в 100 раз по сравнению с естественной морской водой, наблюдалось снижение количества доминирующих видов ДВ. В водной толще по численности доминировали представители родов *Amphora* и *Nitzschia* (до  $7.5 \times 10^3$  кл/л), количество клеток рода *Navicula* достигало  $2,5 \times 10^3$  кл/л. Нитчатые формы ДВ не обнаружены. Среди доминирующих видов микроводорослей, кроме диатомей, отмечены представители пиррофитовых (отдел *Pyrrophyta*) и мелких жгутиковых водорослей, размер клеток которых не превышал  $5-10 \text{ мкм}$ .

## ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования показали, что в бассейнах с морскими животными создаются благоприятные условия (температурный режим, непроточная или слабопроточная вода, оптимальные концентрации биогенных элементов) для развития сообществ микроводорослей как на стенках бассейна, так и в толще воды.
2. В микроальгофлоре бассейнов с естественной морской водой преобладали представители отдела Bacillariophyta. В обрастании стенок бассейна и донном детритном осадке доминировали некоторые виды родов *Synedra*, *Achnantes*, встречались цепочечные формы диатомей.
3. В хлорированной морской воде, при остаточной концентрации активного хлора  $0.3-0.5 \text{ мг/л}$ , численность клеток микроводорослей снижалась в  $100-200$  раз по сравнению с естественной морской водой, цепочечные формы диатомей не встречались, появлялись мелкие жгутиковые водоросли.
4. Биомасса бактериально-водорослевого обрастания стенок бассейна в зависимости от сезона в  $100-1000$  раз ниже, чем в море. Однако в летний период она может достигать  $0.5-0.8 \text{ г сухого веса /м}^2$ , что значительно снижает качество среды обитания афалин.

## Список литературы

1. Смирнова Л.Л. Формирование среды обитания черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash 1940) при бассейновом содержании в естественной и хлорированной морской воде / Л.Л. Смирнова // Морские млекопитающие голарктики: сб. научн. трудов по материалам 6 междунар. конф., 11 – 15 октября 2010 г. Калининград:Терра Балтика, 2010. – С 530 – 534.

2. Рябушко Л.И. Діатомові обростання чорноморських дельфінів-афалін /Л.И.Рябушко, Е.Б. Гольдін, В.С. Плебанський //Матеріали ІХ з'їзду Укр. ботан. товариства.: – К.: Наук. думка, 1992. – С.402 – 403.
3. Рябушко Л.И. Микроводоросли кожних покровов чорноморських дельфінів-афалін и мест их обитания / Л.И. Рябушко // Морські біотехнічні системи. – 2002. - вип.2. – С.188 – 203
4. Гусялков Н.Е. Атлас диатомовых водорослей бентоса северо-западной части Черного моря и прилегающих водоемов / Н.Е. Гусялков, О.А. Закардонцев, В.П. Герасимюк – К.: Наук. думка, 1992. – 110 с.
5. Кульский Л.А. Справочник по свойствам, методам анализа и очистке воды. Ч.1. / Л.А. Кульский, И.Т. Гороновский, А.М. Когановский – К.: Наук. думка, 1980. – 680 с.
6. Gewalt W. Ultraviolet sterilization of water in pool for tonina (*Inia Geoffrensis*). A preliminary report / W. Gewalt // Aquatic Mammals – 1977. – V. 5, No 3. – P. 69 – 71.
7. Van der Toorn J.D. A biological approach to dolphinarium water purification: I. Theoretical aspects / J.D. Van der Toorn // Aquatic Mammals – 1987. – V. 13, No 3. – P.83 – 92.
8. Клей против обрастания и ржавчины // Изобретатель и рационализатор – 1974. – №8. – С.9 – 12.
9. Якубенко А.Р. Критерии и технологические параметры защиты от обрастания электролизным хлорированием морской воды / А.Р. Якубенко, И.Б. Щербакова, Л.А. Якубенко // Технология судостроения, 1981. – №10. – С.120 – 123.
10. Саркисова С.А. Влияние свободного хлора на фотосинтез и состояние пигментной системы морских планктонных водорослей / С.А. Саркисова, И.А. Скринник // Гидробиол. журн. – 1988. – 21, № 4. – С. 4 – 8.
11. Георга-Копулос Л.А. Использование ИК-спектроскопии при изучении действия активного хлора на морскую воду и сообщество перифитонных микроорганизмов / Л.А. Георга-Копулос, Л.Л. Смирнова // Гидробиол. журн. – 1999 – Т. 35, №3. – С. 71 – 76
12. Сорокин Ю.И. К методике концентрирования проб фитопланктона // Гидробиол. журн.- 1979.- №15.- С. 71 -76.
13. Горбенко Ю.А. Экология морских организмов / Ю.А. Горбенко – К.: Наук. думка, 1972. – 256с.
14. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – К.: Наук. Думка, 1976. – С. 31 – 33.
15. Смирнова Л.Л. Выбор оптимального режима водообмена при бассейновом содержании морских млекопитающих /Л.Л. Смирнова, Е.П. Башинский // Морські біотехнічні системи. – 2002. – вип.2. – С.208 – 214.
16. Сорокин Ю.И. Черное море / Ю.И. Сорокин – М.: Наука, 1982. – С.43 – 80.

**Смирнова Л.Л. Видовий склад і розподіл микроводоростей в басейнах з морськими ссавцями / Л.Л. Смирнова, І.І. Бабич, І.М. Аннінська // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 254-260.**

Проведено порівняльне вивчення видового і кількісного складу домінуючих видів і родів микроводоростей, що розвиваються в природній і хлорованій морській воді басейнів з дельфінами афаліна (*Tursiops truncatus ponticus* Varabash 1940). Показана сезонна динаміка наростання біомаси бактеріально-водоростевого обростання стінок басейну при утриманні дельфінів у природному морському середовищі.  
**Ключові слова:** дельфіни афаліна, басейн для утримання морських ссавців, природна морська вода, хлорована морська вода.

**Smyrnova L.L. Species composition and distribution of algae in the pools with marine mammals / L.L. Smyrnova, I.I. Babeech, S.N. Anninskaja // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 254-260.**

A comparative study of species and quantitative compositions of dominant species and genera of algae growing in natural and chlorinated seawater in pools with bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus ponticus* Varabash 1940) was conducted. The seasonal dynamics of bacterial-algal microfouling biomass developed on the walls of the pool with dolphins in natural seawater shows.

**Keywords:** bottlenose dolphins, pools for the content of marine mammals, natural seawater, chlorinated seawater.

*Поступила в редакцію 18.05.2011 г.*

**УДК 577.3**

**EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD WITH 8 Hz FREQUENCY  
ON THYMOCYTES NUCLEUSES INJURY CAUSED BY NANOSTRUCTURED  
SILICON AND HYDROGEN PEROXIDE**

*Sobko V.M., Martynyuk V.S., Shevchenko V.B., Protopopov M.V.*

*Kiev National Taras Shevchenko University, Kiev, Ukraine  
E-mail: svitya@ua.fm*

Electromagnetic fields of low frequency are known to modulate cells functioning both in physiological and pathological conditions, on what their effective application in medicine is based. Using the reliable and sensitive method of comet assay the nucleuses DNA damages were studied in the suspension of isolated rat thymocytes after three hour incubation with nanostructured silicon, hydrogen peroxide and exposure to electromagnetic fields, considering both individual and combined effects. After the comet assay analysis we confirmed the results of previous research that indicated the DNA damages in cells after combined influence of nanostructured silicon, 0.1 mM hydrogen peroxide and electromagnetic fields. It was found that the exposure of the suspension of thymocytes to electromagnetic fields with frequency of 8 Hz combined with the action of hydrogen peroxide and nanostructured silicon in the presence of light led to the increased number of DNA breaks in nucleuses that might be due to a protective response to peroxide damage.

**Keywords:** apoptosis, electromagnetic fields of low frequencies, comet assay, single- and double-strand breaks of DNA, hydrogen peroxide, nanostructured silicon.

**INTRODUCTION**

During the past few decades, research of the electromagnetic waves influence has developed into specialized sub-disciplines, from basic physics to tumor biology and experimental therapy. One of actual problems of modern biophysics is to evaluate the possibility of electromagnetic fields of low frequency to induce and modulate (modify) cell death [1]. Recently it was shown that the combined influence of 8 Hz frequency EMF with the action of oxidative factors such as hydrogen peroxide and nanostructured silicon in the presence of light reduces viability of thymocytes by increasing the number of apoptic cells compared to control [2]. It was supposed that energy of photoexcited silicon nanocrystals is transferred to the interacting cell's molecular system and results in tissue damage mainly through generating of reactive oxygen species (R.O.S.), which induce oxidative damage and genetic instability. The combined influence of 8 Hz frequency EMF with the action of hydrogen peroxide and photoexcited nanostructured silicon is considered to induce physical, chemical and molecular damage to tissues leading to genomic instability and can cause cell death, particularly apoptosis [3, 4]. Nevertheless received results are not absolutely reconcilable and further research are indispensable.

As a model for studying the influence of electromagnetic waves of low frequency range (8 Hz) on the processes caused by the action of silicon and hydrogen peroxide (0.1

mM) as an oxidative factors suspension of isolated thymocytes were selected because they were not fully differentiated cells, characterized by greater instability of genome than other cells, and lower activity of DNA reparation systems of single strand breaks, which facilitates the activation of apoptosis while they were exposed to various factors. The use of isolated thymocytes for analysis of apoptosis in vitro allowed morphological control of thymocytes and to identify cells with fragmented chromatin and apoptotic bodies, whereas in vivo they were quickly absorbed by phagocytes [5].

Since a reliable and sensitive method was necessary for our research the comet assay was chosen. The comet or single-cell gel electrophoresis assay is now widely used as a quick, sensitive and cheap method for measuring DNA stand breaks in eukaryotic cells for investigation of genetic damage associated with exposures to potentially genotoxic agents. The comet assay was first described by Ostling and Johansson (1984) and in its independent modification by Singh et al. (1988). One great advantage of this method is that it is possible to measure the level of single- and double-strand breaks of DNA in individual cells. The comet assay detects very reliably the level of single- and double-strand breaks of DNA at low levels of damages [6, 7, 8].

The aim of our present study was to investigate DNA damages induced by monoinfluences of chosen factors and the combined influence of 8 Hz frequency EMF with the action of oxidative factors such as hydrogen peroxide and nanostructured silicon in the presence of light compared to control.

#### **MATERIALS AND METHODS**

Thymocytes were obtained from the thymus of Wistar rats with weigh about 120-150 g which were kept in standard vivarium diet. Dedicated thymus was grinded through the filter of synthetic fibers ( $\varnothing = 0,1$  mm) in buffer solution with following composition (g/l): NaCl – 6,796; KCl – 0,274; CaCl<sub>2</sub> – 0,288; NaHCO<sub>3</sub> – 2,091; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,299; MgSO<sub>4</sub> – 0,144; glucose – 1,8; (pH 7.4). The number of cells was counted by light microscope in the chamber of Horyayev using dye (0,4% solution of trypan blue). If the membrane integrity has been compromised (dead cells), the cells absorb the dye and appear blue. When the cell viability was less than 80%, the cells were discarded and a new batch was started.

Incubation of thymocytes ( $2-4 \times 10^6$  cells / ml) was performed in a water thermostat at 37°C in a stationary medium RPMI-1640 with the addition of 2.05 mM glutamine. Incubation was been carried out for 3 hours with light.

Samples were subjected to the magnetic field treatment, which was created by the Helmholtz rings. Impulses were rectangular with different polarity. Frequency of the magnetic field was 8 Hz whereas induction of the magnetic field was 25  $\mu$ T. Frequency of the magnetic field was selected on the basis of its ecological and geophysical significance [9]. Vector of induction generated by the magnetic field was parallel to vector of the geomagnetic field. Investigated samples were set down in Helmholtz rings. Control samples were in the conditions of the electromagnetic fields background commonly appropriate to the laboratory (20-65 nT). To assess the reliability of the impact of the

electromagnetic fields of low frequencies we used Student's t-test for independent samples linked in pairs.

In this experiment we used the following conditions: control cell suspension, cell suspension, which has been subjected to the effects of nanocrystalline silicon with the size of pores and crystallites of 2-5 nm activated by light, the electromagnetic wave with frequency of 8 Hz during incubation, with the addition of hydrogen peroxide to a final concentration of 0.1 mM in the incubation medium, a combination of electromagnetic interference with hydrogen peroxide one.

To estimate DNA damage comet assays was chosen because of its quickness and sensitivity. The neutral version of comet assay was carried out based on the work of Syvolob et al as follows: on the day of electrophoresis, an aliquot of 50  $\mu$ l freshly prepared suspension of cells was mixed with 100 ml 1 % low-melting-agarose. 25  $\mu$ l of the mixture was layered on top of an ordinary microscope slide precoated with 1 % normal-melting -agarose, which was allowed to dry at room temperature protected from dust and other particles. After low-melting-agarose was solidified in a refrigerator for 3-5 minutes, the coverslip was carefully removed and the slide was gently immersed in a freshly prepared lysing solution (2.5MNaCl, 100mM EDTA, 10mM Tris-HCl (pH=8,0), with 1 % Triton-100 added just before use). Lysis was carried out at least for 2 h [10].

This assay is based on the separation from supercoiled DNA of DNA loops containing strand breaks (specifically DSBs) that become free to migrate out of the nucleus towards the anode during a neutral electrophoresis in a TBE buffer (0,089 M Tris, 0,089 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 2 mM EDTA, pH=7,5). After lysis slides were washed away with electrophoresis' buffer and were incubated for 10 minutes. Single cell gel electrophoresis was performed for 20 min under following conditions: 4°C, 1V/sm, 300 nA) [10].

DNA images were captured after staining with DAPI with a phluorescent microscope. For quantification, the comets were classified into different categories. We subdivided cell DNA damage into five stages (0–4) according to the length and the intensity of the comet tail as illustrated in Fig. 1. Stage 0 (no tail) and stage 1 (halo around the nucleus) corresponded to cells without a significant number of DNA strand breaks. Stages 2–4 corresponded to a gradual increase in DNA damage. We measured the comet score in 100 randomly selected cells per slide. Results were, first, expressed as the percentage of each stage of comets per slide. In a second step, a comet score was calculated with the help of the programe CometScore, following a modification of Collins' method, as the sum of the percentage of each comet stage multiplied by n (from 0 to 4) (Collins 2004). The scores were expressed in arbitrary units on a scale from 0 (all the comets are in stage 0) to 400 (all the comets are in stage 4) [11].

## RESULTS AND DISCUSSION

The experiment designed to measure DNA damage was performed with rat thymocytes suspension and showed nuclear DNA damage in samples exposed to different factors and their combinations. By using scoring method of Collins (2004), the DNA damage due to different influences shows different responses with certain regularity (Table 1, Fig. 2). Sufficient discrimination about the degree of damage in DNA according to comet appearance [Type 0 (no tail) to type 4 (almost all DNA in tail)] was given by

Collins (2004) (Fig.1.). A total of 100 comets were scored from each sample and each comet assigned a value of 0 to 4 according to its type. The total score for the sample gel is given between 0 to 400 “arbitrary units”. Most of the comets of unexposed samples belonged to type 0 and type 1 (Table 1, Fig. 2). The frequency of type 2, 3 and 4 increased with respect to the increase of damaging impact strength to thymocytes, which further correspondingly effects the arbitrary unit, showing increase from 31.0 in control sample to 178.0 in sample exposed to the combined effect of nanoporous silicon with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 8 Hz frequency EMF.

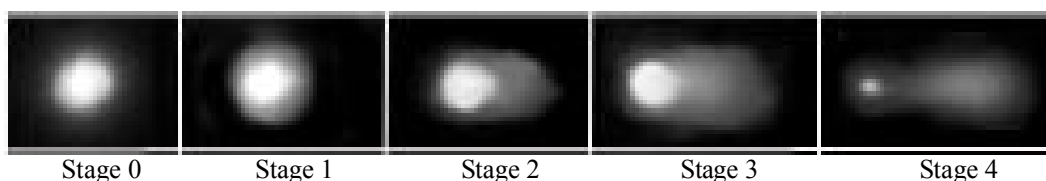


Fig. 1. Different stages of DNA damage measured by comet assays.

Some baseline damage is always there which may be because of unwanted exposure to so many environmental mutagens in day to day life and partially may be due to processing error. The data presented in Figure 2 and Table 1 indicate that after three hour exposure the monoinfluence of electromagnetic field (EMF) with frequency of 8 Hz, silicon and hydrogen peroxide increase the level of DNA damages in different ways. The largest augmentation of DNA damages was observed under action of hydrogen peroxide, namely 132, driven by oxidative injuries to cells. Under the monoaction of electromagnetic field (EMF) with 8 Hz frequency insignificant increase of 37 “arbitrary units” was observed. When nanostructured silicon was activated by light, the degree of DNA damages amounts 40, which might be due to the formation of reactive oxygen species.

**Table 1**  
**Score of DNA damage measured by comet assay in thymocytes immediately after three-hour exposure to different factors and their combination. DNA damage was in neutral conditions (DSBs). Data are expressed as arbitrary units on a scale from 100 to 400; TC – total number of cells scored. The experiment was carried six times, and the average values presented in the table. Statistical analyses were made by comparison of control values and values obtained after treatments**

Sample №	Factor of exposure	TC	Cells with comet	Comet type					Arbitrary unit
				0	1	2	3	4	
1	control	100	21	79	11	10	0	0	31±1,75
2	n.s.silicon	100	28	72	18	8	2	0	40±1,83
3	8 Hz	100	30	70	24	5	1	0	37±2,08
4	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	100	76	24	42	23	7	4	132±2,58
5	n.s.silicon+8 Hz	100	37	63	26	9	1	1	51±2,25
6	n.s.silicon+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	100	93	7	48	27	12	6	162±2,42
7	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +8 Hz	100	88	12	50	23	10	5	146±1,58



**EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD WITH 8 HZ FREQUENCY...**

8	n.s.silicon+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +8 Hz	100	98	2	43	38	9	8	178±2,5
Total		800	471						

In some cases a significant enhancement of DNA damages level was observed when we combined different factors of influence. After the combined action of 0.1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and silicon the amount of DNA damages is 162; after the combined action of EMF with 8 Hz frequency and silicon the number of DNA damages makes 51 “arbitrary units”; the combined influence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and EMF augment the level of DNA damage, which is 146; the combined influence of silicon, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and EMF with 8 Hz frequency has the strongest impact on DNA damages, which amounts 178 “arbitrary units”. It should be mentioned that in all samples nanostructured silicon was activated by light, thus, it could efficiently transfer their energy to the molecules of O<sub>2</sub> adsorbed on the surface of nanocrystals. As a result, the transition of the molecule from the triplet to the singlet state was observed and nanoporous silicon could demonstrate oxidative effect [12]. Therefore, comparing the results we can conclude that the amount of DNA damages was considerably increased by influence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photoactivated silicon due to its oxidative properties and the effect was enhanced by the EMF with frequency of 8 Hz, which is known to enhance oxidative damages [13].

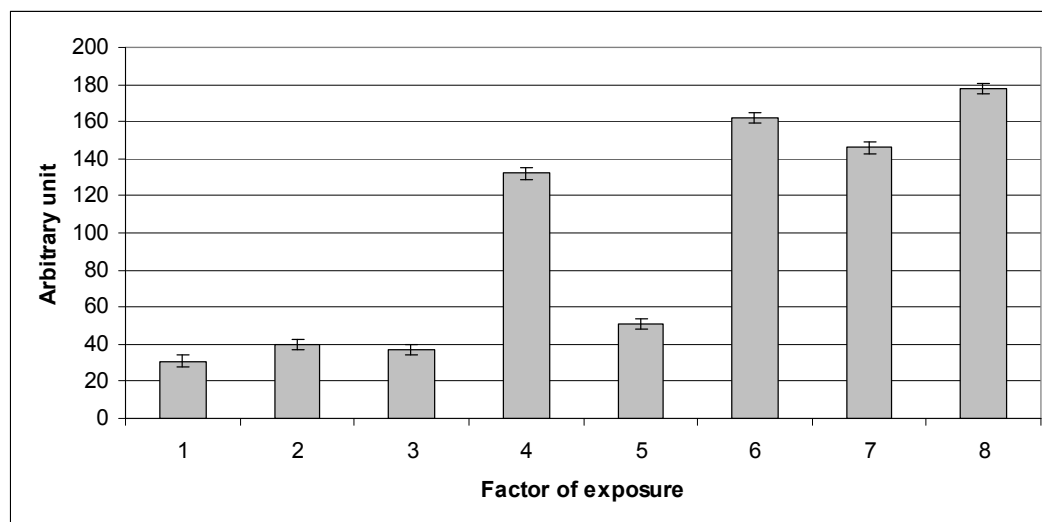


Fig. 2. DNA damage in thymocytes after three-hour exposure to different factors and their combination expressed as arbitrary units on a scale from 100 to 400. 1- control; 2 - n.s.silicon; 3 - 8 Hz; 4 - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 5 - n.s.silicon+8 Hz; 6 - n.s.silicon+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 7 - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+8 Hz; 8 - n.s.silicon+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+8 Hz.

Overall it should be noted that the mechanisms of biological effect of 8 Hz frequency EMF have been insufficiently researched, but despite this fact, magnetic fields have been used quite effectively in modern medical practice. In particular they have been used for

anti-inflammatory therapy, accelerating tissue regeneration and improvement of microcirculation. The generation of singlet oxygen caused by illumination of ensembles of silicon nanocrystals was proposed to be used for the suppression of reproduction of cancer cells. Presumably the suppression efficiency would be higher at the combined impact of nanostructured silicon and EMF of 8 Hz frequency. It was believed that the physical basis of this action was to coordinate the motion of charged particles [14]. The result of this interaction was primarily the change in membrane potential and activity of lipid peroxidation. In addition, the magnetic field affected the physical and chemical properties of water, free-radical chemical reactions, macromolecule of large anisotropic diamagnetic compounds [14].

### CONCLUSION

The amount of DNA damages was considerably increased by influence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photoactivated silicon due to its oxidative properties and the effect was enhanced by the EMF with frequency of 8 Hz, which is known to enhance oxidative damages.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are sincerely grateful to the Department of Genetics of Taras Shevchenko National University of Kyiv for providing laboratory facilities. The help rendered by Afanasieva K.S. and Zazhytska M. are thankfully acknowledged.

### References

1. Barnes F.S. Biological and Medical Aspects of Electromagnetic Fields / Barnes F.S., Greenebaum B. // CRC Press. – 2007. – P. 1-256.
2. Sobko V. Effect of electromagnetic field with 8 Hz frequency on the cell injury and programmed cell death caused by nanostructured silicon and hydrogen peroxide / Sobko V., Martynyuk V., Shevchenko V., Ratushna O. // *Physics of the alife*. – 2010. – V. 18, No. 2. – P. 45-49.
3. Korenberg A. Radiation-induced genomic instability / Korenberg A. // *Int J Radiat Biol*. – 1994. – No. 65 – P. 57-64.
4. Chen T.C. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D / Chen T.C. Chimeh F. Holick MF. // *Arch Biochem Biophys* – 2007. V. 460, – P. 213-217.
5. Гринюк І.І. Зміни структурного стану хроматину в тимоцитах на ранньому етапі апоптозу за індукції пероксидом водню і радіацією / Гринюк І.І., Корнійчук Г.М., Капралов О.О. Магишевська О.П. // *Укр. біохім. журн.* – 2004. – Т. 76, вип. 5. – С. 90-95.
6. Stone JR. Hydrogen peroxide: a signaling messenger / Stone JR., Yang S. // *Antioxidants & Redox Signaling* – 2006. V. 8, – P. 243–270.
7. Coclet J. Cell population kinetics in dog and human adult thyroid / Coclet J, Foureau F, Ketelbant P, Galand P., Dumont JE. // *Clinical Endocrinology* – 1989. V. 31, – P. 655–665.
8. Driessens N. Hydrogen peroxide induces DNA single- and double-strand breaks in thyroid cells and is therefore a potential mutagen for this organ / Driessens N., Versteyhe S., Ghadhab C., Burniat A. // *Endocrine-Related Cancer*. – 2009. – No 16. – P. 845-856.
9. Мартынюк В.С. У природы нет плохой погоды: космическая погода в нашей жизни / Мартынюк В.С., Темуриянц Н.А., Владимирский Б.М. - Киев: Издатель В.С. Мартынюк, 2008. - 179 с.

10. Афанасьева К. Швидкість виходу ДНК при нейтральному та лужному електрофорезі ізольованих клітин / Афанасьева К., Шувалова Т., Жажицька М., Сиволюб А. // Вісник КНУ ім. Т. Шевченка. – 2007. – вип. 50. – С. 87-89.
11. Collins A.R. The comet assay for DNA damage and repair / Collins A.R. // Mol Biotech. – 2004. – No. 26. – P. 249-261.
12. Горячев Д.Н. Электролитический способ приготовления пористого кремния с использованием внутреннего источника тока // Горячев Д.Н., Беляков Л.В., Сресели О.М. // Физика и техника полупроводников – 2003. – Т. 37(4). – С. 494-498.
13. Exley C. Silicon in life: A bioinorganic solution to bioorganic essentiality / Exley C. // Journal of Inorganic Biochemistry. – 1998. – V. 69. – P. 139.
14. Холодов Ю.А. Способы использования магнитных полей в медицине и пути воздействия этих полей на организм / Холодов Ю.А. // Магнитология - 1991. – вып. 1. - С. 6-11.

**Собко В.М. Влияние электромагнитного поля частотой 8 Гц на повреждение ядер тимоцитов, вызванного действием наноструктурированного кремния и пероксида водорода / В.М. Собко, В.С. Мартынюк, В.Б. Шевченко, Н.В. Протопопов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С.261-267**

Электромагнитные поля сверхнизкой частоты способны изменять функционирование клеток как при физиологических, так и при патологических состояниях, на чем и основано их эффективное применение в медицине. С помощью метода кометного электрофореза было исследовано повреждение ДНК ядер в суспензии изолированных тимоцитов крыс после инкубации с наноструктурированным кремнием,  $H_2O_2$  и при наличии электромагнитного поля, как при раздельном, так и комбинированном воздействии выбранных факторов. После анализа кометного электрофореза, были подтверждены результаты предыдущих исследований, которые указывали на повреждение ядра при действии кремния,  $H_2O_2$  и электромагнитного поля. Показано, что воздействие поля частотой 8 Гц в сочетании с действием кремния и  $H_2O_2$  на суспензию тимоцитов приводит к увеличению общего количества разрывов ДНК в ядре, что может быть обусловлено защитным ответом на пероксидное повреждение.

**Ключевые слова:** апоптоз, низкочастотное электромагнитное излучение, кометный электрофорез, разрывы ДНК, пероксид водорода, наноструктурированный кремний.

**Собко В.М. Вплив електромагнітного поля частотою 8 Гц на ушкодження ядер тимоцитів, спричиненого дією наноструктурованого кремнію та пероксиду водню / В.М. Собко, В.С. Мартинюк, В.Б. Шевченко, М.В. Протопопов // Вчені записки Таврійського національного університету ім.В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 261-267.**

Електромагнітні поля наднизької частоти здатні змінювати функціонування клітин як за фізіологічних, так і за паталогічних станів, на чому і засноване їхнє ефективне застосування в медицині. За допомогою методу кометного електрофорезу було досліджено пошкодження ДНК ядер у суспензії ізольованих тимоцитів шурів після інкубації з наноструктурованим кремнієм, пероксидом водню та при наявності електромагнітного поля, як при окремому, так і комбінованому впливі обраних факторів. Після аналізу кометного електрофорезу, було підтверджено результати попередніх досліджень, які вказували на пошкодження ядра при дії кремнію, пероксиду водню та при впливі електромагнітного поля. Показано, що вплив електромагнітного поля частотою 8 Гц у комбінації з дією кремнію та пероксиду водню на суспензію тимоцитів призводить до збільшення загальної кількості розривів ДНК у ядрі, що може бути зумовлено захисною відповіддю на перекисне пошкодження.

**Ключові слова:** апоптоз, низькочастотне електромагнітне випромінювання, кометний електрофорез, розриви ДНК, пероксид водню, наноструктурований кремній.

*Поступила в редакцію 10.02.2011 г.*

УДК 615.849.11:595.123:57.034

**ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ФАКТОРОВ  
НА УЛЬТРАДИАННУЮ РИТМИКУ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ  
ПЛАНАРИЙ *DUGESIA TIGRINA***

*Темурьянц Н.А.<sup>1</sup>, Мартынюк В.С.<sup>2</sup>, Ярмолюк Н.С.<sup>1</sup>, Шехоткин А.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадського, Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*Киевский национальный университет им. Т.Г. Шевченко, Киев, Украина*

*E-mail: nat\_yarm@mail.ru*

Выявлена ультрадианная ритмика скорости движения планарий *Dugesia tigrina*. При слабом электромагнитном экранировании, действии слабых переменных магнитных полей сверхнизкой частоты наблюдаются ее изменения, выражающиеся в выраженных перестройках спектров мощности, сдвигах фаз и амплитуд выделенных периодов. На первые, седьмые и 14-е сутки воздействия электромагнитных факторов эти изменения выражены по-разному. Максимальные изменения отмечены на первые сутки наблюдения, в дальнейшие сроки ультрадианная ритмика нормализуется.

**Ключевые слова:** планарии *Dugesia tigrina*, скорость движения, ультрадианная ритмика, переменное магнитное поле сверхнизкой частоты, электромагнитное экранирование.

**ВВЕДЕНИЕ**

Одной из актуальных проблем экологической физиологии является изучение временной организации биологических систем различных уровней организации [1–5], которая рассматривается как не менее важная их характеристика, чем пространственная [6–10]. Эти исследования важны и для изучения механизмов действия слабых электромагнитных (ЭМ) факторов, которые могут выступать как датчики времени в широком диапазоне периодов. Одним из пейсмекеров времени является переменное магнитное поле (ПемП) сверхнизкой частоты (СНЧ) [11]. Роль ЭМ сигналов в ритмической организации биологических систем может быть изучена также в экспериментах с электромагнитным экранированием (ЭМЭ).

Для исследования столь важных вопросов необходим выбор адекватных объектов исследования, обладающих высокой информативностью и достоверностью получаемых данных, определение которых отличается доступностью. Таким объектом могут быть планарии, широко применяющиеся для изучения действия различных экологических факторов, в том числе и ЭМ природы [12]. Как свидетельствуют данные литературы, наиболее часто изучаются регенераторные процессы у этих животных [13–15], а также их локомоторная активность [16–18], определяемая, в частности, по скорости движения (СД). Показано, что временная организация функциональных систем планарий включает ритмы различной продолжительности [19], однако их ультрадианная ритмика совершенно не изучена. В связи с этим, целью данного исследования явилось изучение

ультрадианной ритмики СД планарий, а также ее изменений под влиянием слабых ПемП СНЧ, слабого ЭМЭ и их комбинации.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована лабораторная бесполоая раса планарий *Dugesia tigrina*, условия их содержания и кормления описаны ранее [20].

Для экспериментов отбирали животных длиной  $\approx 9 \pm 1$  мм, у которых движение осуществляется за счет ресничек, а не мускулатуры [21].

Планарий отбирали для опыта через три-четыре дня после кормления. Каждое животное помещалось в отдельный флакон с 20 мл. воды, что позволило регистрировать СД каждой отдельно взятой планарии. Для эксперимента было выделено четыре группы животных по 25 особей. Первая группа содержалась в обычных условиях лаборатории (контрольные животные), вторую содержали в экранирующей камере в течение четырнадцати дней по 21 часу в сутки, животные третьей группы по три часа в день подвергались воздействию ПемП частотой 8 Гц индукцией 50 нТл, а в четвертую группу вошли планарии, которые находились в условиях ЭМЭ и дополнительно подвергались действию ПемП СНЧ. О реакции планарий на действие ЭМ факторов судили по изменению их СД. Выбор этого параметра функционального состояния для исследований обусловлен тем, что ЭМ факторы различных параметров изменяют аппарат движения – реснички, жгутики [22], а также структуру основного белка ресничек – тубулина [23].

Фиксацию изображения для определения СД планарий производили на протяжении суток с интервалом в три часа, такие измерения проводили в первый, седьмой и 14-й день после экспериментального воздействия.

СД определяли с помощью компьютерных технологий анализа изображения [24]. Для этого видеоизображения движущихся в воде червей регистрировались с частотой 30 кадров в одну секунду. СД планарии вычислялась отношением пройденного ею пути (мм) ко времени в одну секунду. Путь измерялся наложением двух участков одного видеоряда с соответствующей разницей во времени. Контрастирование проводилось при помощи стандартной операции «вычитания» для двух изображений [25].

Ослабление электромагнитного поля достигалось применением экранирующей камеры, которая представляет собой комнату размером 2х3х2 метра, изготовленную из железа «Динамо». Коэффициент экранирования постоянной составляющей магнитного поля, измеренный с помощью феррозондового магнитометра, составлял по вертикальной составляющей 4,4, по горизонтальной – 20. Кроме того, в помещении лаборатории и в экранирующей камере были произведены измерения естественного радиационного фона с помощью радиометра бета-гамма излучения РКС-20.03 «Припять». Величина фона составила 10-15 мкР/ч, что соответствует норме. Различий естественного радиационного фона в лаборатории и в экранирующей камере не выявлено [26]. Измерялась также спектральная плотность магнитного шума в камере как в области ультранизких (от  $2 \cdot 10^4$  Гц до 0,2 Гц), так и в области радиочастот (от 15 Гц до 100 кГц). В области сверхнизких частот измерения производились с помощью феррозондового магнитометра в паре со спектроанализатором, в области радиочастот – индукционным методом. Внутри камеры для частот выше 170 Гц и в области частот от

$2 \cdot 10^{-3}$  до 0,2 Гц уровень спектральной плотности магнитного шума ниже 10 нТл/Гц<sup>0.5</sup>. Магнитное поле существенно проникает внутрь камеры на частотах 50 и 150 Гц и ниже  $2 \cdot 10^{-3}$  Гц. Коэффициент экранирования камеры на частотах 50 и 150 Гц порядка 3. В области частот от 150 Гц до 100 кГц происходит слабое экранирование, тогда как частоте больше 1 МГц имела место лишь тенденция к ослаблению.

В настоящем исследовании выбор параметров воздействующего ПеМП осуществлялся на основе оценки их физиологической и геофизической значимости. Выбранная частота 8 Гц является фундаментальной частотой ионосферного волновода [27], а, кроме того, близка к частоте некоторых биоритмов [3]. Величину магнитной индукции (50 нТл) выбирали с таким учетом, чтоб она была выше напряженности естественного ПеМП на данной частоте. Такой выбор обусловлен тем, что для этой интенсивности поля физиологические эффекты надежно воспроизводятся [28]. Экспериментальная установка состояла из катушек индуктивности диаметром 1 м и низкочастотного генератора ГРМ-3. Для контроля гармонического колебания использовался одноканальный лучевой осциллограф С1-114/1. В нашем исследовании применяли многократные ежедневные трехчасовые экспозиции ПеМП СНЧ, именно такова средняя продолжительность геомагнитных возмущений на данной частоте [29].

В качестве метода нахождения спектральных характеристик изучаемых показателей для каждой планарии отдельно использовали косинор-анализ [30], который применяется в исследованиях ритмики различной продолжительности и этот анализ заключается в том, что вначале, методом наименьших квадратов вычисляются значения амплитуды для каждой индивидуальной хронограммы, а затем для исследуемой выборки животных находят средние значения спектральных параметров и их ошибки средних.

Оценку достоверности наблюдаемых изменений проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента. За достоверную принимали разность средних при  $p < 0,05$ . Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводились с использованием программы Microsoft Excel [31].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектральный и косинор-анализы измерений СД в течение первых, седьмых и 14-х суток исследования выявили ее ультрадианную ритмику. В первый день исследования спектр состоял из следующих периодов:  $\approx 6,3 \pm 0,1$ ;  $\approx 7,4 \pm 0,2$ ;  $\approx 8,4 \pm 0,1$  и  $\approx 9,9 \pm 0,2$  часов. На седьмой день:  $\approx 6,1 \pm 0,07$ ;  $\approx 7,3 \pm 0,1$ ;  $\approx 8,5 \pm 0,2$  и  $\approx 10,2 \pm 0,3$ . А на 14-й день характерны такие ритмы:  $\approx 6,1 \pm 0,02$ ;  $\approx 7,3 \pm 0,1$ ;  $\approx 8,5 \pm 0,1$  и  $\approx 10,5 \pm 0,057$ . Таким образом, состав спектров ультрадианных ритмов СД различался лишь в пределах ошибки средней. Ультрадианные ритмы близкой продолжительности выявлены в динамике различных показателей: числа лейкоцитов в крови беспородных мышей [32], двигательной активности крыс [33], ТБК-активных продуктов и суммарных тиоловых групп в головном мозге мышей [34]. Показано, что в этом диапазоне ритмов всегда присутствует набор гео- и гелиофизически значимых гармоник.

Амплитуды выявленных ритмов спектров несколько различались: на первые сутки исследования выявлялся четко выраженный 6-часовой доминирующий период с амплитудой  $0,66 \pm 0,48$  усл.ед., тогда как на седьмые и 14-е сутки

амплитуда этого ритма снижалась до  $0,27 \pm 0,09$  и  $0,25 \pm 0,06$  соответственно. На 14-е сутки, также как и первые, 6-часовой ритм превалирует, однако амплитуды других выделенных ритмов не различаются.

Сопоставление спектров индивидуальных ритмов СД планарий показало, что амплитудные пики отдельных ультрадианных периодов группируются в достаточно узких интервалах ( $\approx 1\%$ ). Кроме того, у животных контрольной группы наблюдается выраженная пластичность ритма СД, которая в различные дни экспериментов проявляется в виде варьирования состава периодов и их амплитуд в спектрах.

В проведенных исследованиях на первые, седьмые и 14-е сутки наблюдения выявлены изменения ультрадианной ритмики СД планарий при действии слабых ЭМЭ, ПемП СНЧ и их комбинации.

У планарий, находившихся в условиях ЭМЭ, а также у контрольных животных, в первый день эксперимента в динамике локомоторной активности выявлено четыре периода:  $\approx 6,3$ ;  $\approx 7,4$ ;  $\approx 8,4$  и  $\approx 9,9$  часов. Период  $\approx 11,0 \pm 0,2$  часов выявлен лишь в группе животных, подвергавшихся воздействию ЭМЭ. Кроме того, при действии ЭМЭ, наблюдалось смещение доминирующего ритма ( $\approx 6^h,3$ ) в сторону более низкочастотных периодов ( $\approx 7^h,3$ ) (рис. 1, А). В совпадающих периодах  $\approx 6,3$ ;  $\approx 7,4$ ;  $\approx 8,4$  и  $\approx 9,9$  часов отмечались значительные сдвиги фаз на  $157^\circ$  ( $p < 0,05$ ),  $153,8^\circ$  ( $p < 0,05$ ),  $140,5^\circ$  ( $p < 0,05$ ) и  $146,9^\circ$  ( $p < 0,05$ ) соответственно.

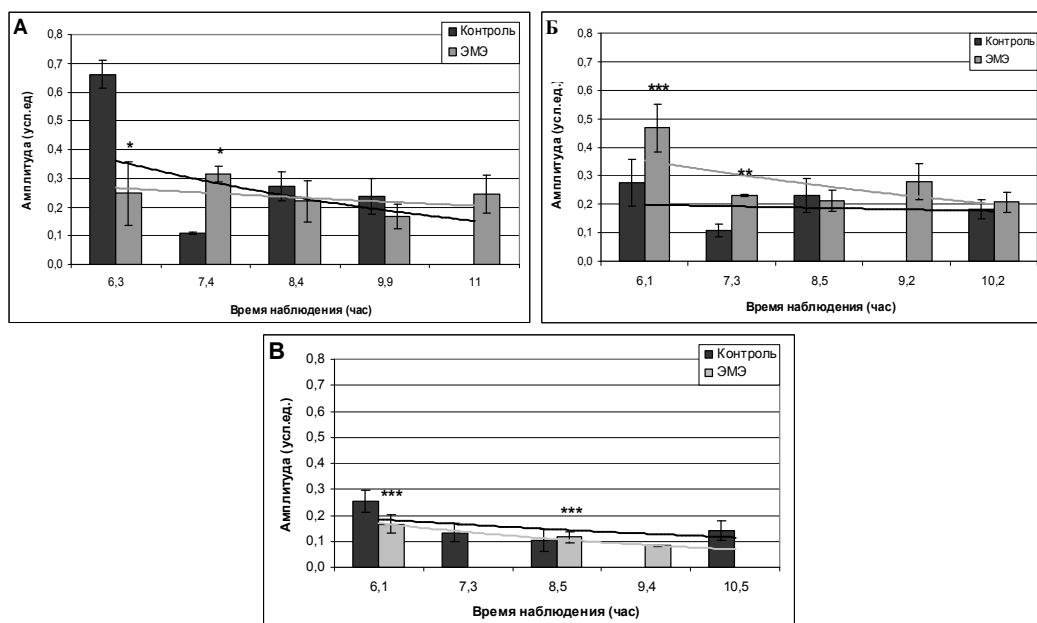


Рис. 1. Спектры периодов ультрадианных ритмов скорости движения интактных планарий и животных, содержащихся в условиях ЭМЭ в различные сроки эксперимента:

А – первый день; Б – седьмой день; В – 14-й день.

Примечание: \* – достоверность различий сравниваемых групп животных:

\* – ( $p < 0,001$ ); \*\* – ( $p < 0,01$ ); \*\*\* – ( $p < 0,05$ )

На седьмые сутки эксперимента в исследуемых спектрах ультрадианной ритмики СД контрольных животных и планарий, находящихся в условиях ЭМЭ, также совпадало четыре периода:  $\approx 6,1$ ;  $\approx 7,3$ ;  $\approx 8,5$  и  $\approx 10,2$ , в то время как период  $\approx 9,2 \pm 0,1$  выявлялся лишь в спектрах животных, подвергавшихся действию ЭМЭ. В этот срок наблюдения доминирующие ритмы в сравниваемых группах совпадали ( $\approx 6^h, 1$ ), но его амплитуда у животных, находившихся в условиях ЭМЭ, возрастала в 1,7 раз (рис. 1, Б). Кроме того, в этом периоде наблюдался и достоверный сдвиг фаз, который составил  $76,26^\circ$  ( $p < 0,05$ ), тогда как с увеличением длины периода в ритмах  $\approx 7,3$ ;  $\approx 8,5$  и  $\approx 10,2$  отмечалась лишь тенденция к сдвигам фаз на  $48,93^\circ$ ;  $28,3^\circ$  и  $14,32^\circ$ .

На 14-е сутки пребывания животных в условиях ЭМЭ отмечен менее насыщенный спектр периодов СД, а именно, выявляется три ритма, вместо четырех, наблюдаемых в контрольной группе. При этом совпадают периоды  $\approx 6,1$  и  $\approx 8,5$  часов. В сравниваемых группах совпадали доминирующие ритмы ( $\approx 6^h, 1$ ) и их амплитуда (рис. 1, В). Кроме того, достоверный сдвиг фаз наблюдался лишь в периоде  $\approx 8,5$  часов, который составил  $314,1^\circ$  ( $p < 0,05$ ), тогда как в периоде  $\approx 6,1$  часов наблюдалась лишь тенденция к сдвигу на  $41,6^\circ$ .

Таким образом, в условиях слабого ЭМЭ существенно меняется ультрадианная ритмика локомоторной активности планарий. Эти изменения заключаются в существенном снижении амплитуд выделенных ритмов, которое прогрессирует с увеличением сроков наблюдения. Кроме того, ЭМЭ приводит к существенным сдвигам фаз, наиболее выраженных на первые сутки наблюдения. На 14-е сутки ритмические изменения практически нивелируются. Подобное явление при ЭМЭ различных диапазонов обнаружено для ритмики других диапазонов в ряде исследований. Как оказалось, слабое ЭМЭ, эффективность которого исследована Н.А. Демцун (2010), изменяло инфрадианную и сезонную ритмику регенераторных процессов у планарий, причем в зависимости от сезона года изменения инфрадианной ритмики были выражены по-разному, а наиболее выраженные перестройки ритмики обнаружены весной [25]. При экранировании изменяются параметры ритмических процессов и других диапазонов. Так, Ю.И. Бородин и др. (1990) [35] обнаружили, что двухнедельное пребывание инбредных мышей в гипомагнитной камере, ослабляющей постоянное магнитное поле Земли в  $10^4$  раз, вызывает выраженный десинхроноз циркадианных ритмов лимфоидной системы. R. Wever у волонтеров, находящихся в пещерах (естественный экран), описал изменения циркадианной ритмики, заключающиеся в удлинении циркадианного ритма и сглаженности ритмических процессов [36].

Как показали проведенные исследования, слабые ПеМП СНЧ также изменяют ультрадианную ритмику СД планарий. Так, в первый день воздействия ПеМП СНЧ обнаружен более насыщенный спектр периодов, в котором отмечается на один ( $\approx 10,2$  часов) период больше, чем у животных контрольной группы. Анализ амплитудных значений выявил, более низкие значения амплитуд выделенных ультрадианных ритмов. Однако, при действии ПеМП СНЧ, не наблюдалось смещения доминирующего ритма, которым в обеих группах был  $\approx 6,3$ -часовой ритм (рис. 2, А). Кроме того, в доминирующем периоде наблюдался значительный сдвиг фаз на  $173,1^\circ$  ( $p < 0,05$ ).



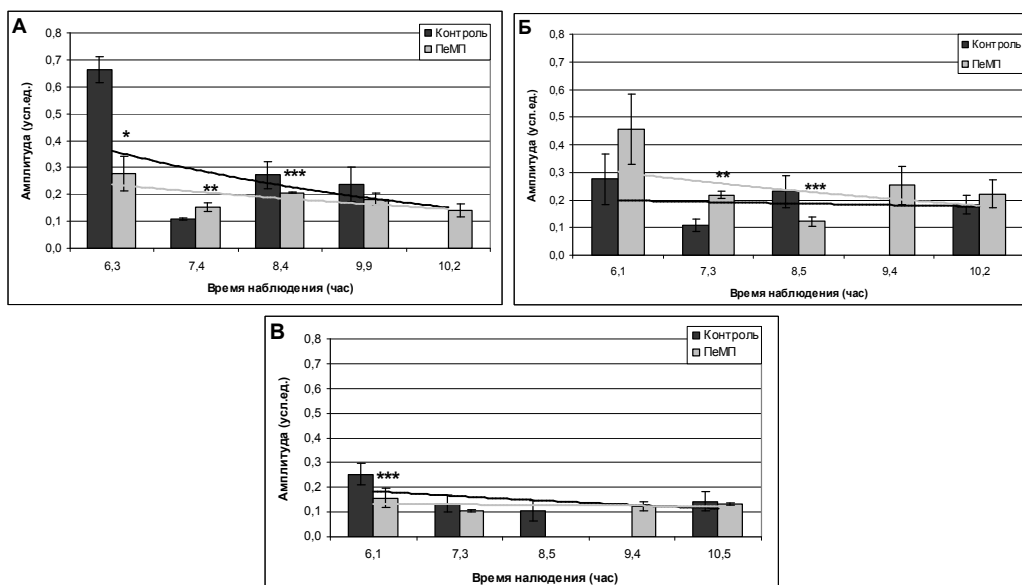


Рис. 2. Спектры периодов ультрадианных ритмов скорости движения интактных планарий и животных, подвергавшихся влиянию ПеМП частотой 8 Гц в различные сроки эксперимента:

А – первый день; Б – седьмой день; В – 14-й день.

Примечание: \* – достоверность различий сравниваемых групп животных:

\* – ( $p < 0,001$ ); \*\* – ( $p < 0,01$ ); \*\*\* – ( $p < 0,05$ )

На седьмые сутки воздействия ПеМП СНЧ в спектре ультрадианной ритмики отмечено четыре совпадающих с данными контрольной группы периода. При этом в условиях влияния ПеМП СНЧ отмечено появление одного нового низкочастотного ритма, не характерного для интактных животных:  $\approx 9,4$  часов. Кроме того отмечено возрастание амплитуд выделенных ритмов относительно контрольных значений. На седьмые сутки эксперимента совпадали и доминирующие ритмы ( $\approx 6^h, 1$ ) в сравниваемых группах (рис. 2, Б). При семикратном воздействии ПеМП частотой 8 Гц в основном 6-часовом ритме не отмечался достоверный сдвиг фаз, как в первые сутки исследования, а была характерна только лишь тенденция к его сдвигу на  $23,78^\circ$ .

На 14-й день наблюдения отмечено резкое снижение амплитуд выделенных ритмов. Под влиянием ПеМП частотой 8 Гц количество выявленных периодов в исследуемых спектрах совпадает, однако ритм  $\approx 9,4$  часов смещается в сторону низкочастотных относительно периода  $\approx 8,5$  часов контрольной группы животных. К тому же совпадали и доминирующие ритмы в  $\approx 6,1$ -часовом периоде (рис. 2, В). Кроме того, в основном периоде наблюдалась лишь тенденция к сдвигу фаз на  $38,27^\circ$ .

Таким образом, ПеМП частотой 8 Гц изменяет ультрадианную ритмику СД, что выражено в амплитудно-фазных сдвигах и изменении спектров. Эти изменения наиболее выражены в первые сутки наблюдения.

Полученные нами данные согласуются с литературными. Так, под влиянием ПеМП частотой 8 Гц обнаружены и изменения ультрадианной ритмики. В опытах

В.С. Мартынюка (1990) обнаружена не только способность слабых ПеМП влиять на ультрадианную ритмику биохимических показателей, но и зависимость эффектов воздействия от частоты. Согласно данным этого автора воздействие слабым МП частотой 8 Гц приводит к относительно равномерному перераспределению амплитуды исходного 6-часового периода колебаний содержания ТБК-активных продуктов по гармоникам с периодами  $2^h,5$ ;  $4^h,5$  и  $7^h,5$ . Период же наиболее мощной гармоники для тиоловых групп изменяется относительно контрольной группы и составляет около 4,5 ч. Тем не менее, мощность данной гармоники уменьшается почти в 2 раза. Для более высоко- и низкочастотных колебаний суммарных тиоловых групп наблюдается гораздо более значительное снижение мощности. Следует обратить внимание, что такая временная организация обмена тиоловых групп и продуктов перекисного окисления характеризуется практически синфазными колебаниями содержания ТБК-активных продуктов и тиоловых групп на гармонике с периодом 4,5 ч. Воздействие магнитным полем 0,08 Гц также приводит к формированию новой ритмики исследуемых процессов, однако асинхронность интегральных колебания содержания продуктов перекисного окисления и тиоловых групп сохраняется. При данном воздействии выявлено формирование слабой по мощности гармоники колебаний ТБК-активных продуктов с периодом около 4,5 ч, тогда как период наиболее мощной гармоники увеличивается до 8 ч [37].

Н.М. Фатеева (1995), оценивая различные периоды нахождения рабочих на вахте при трансширотных перелетах в условиях Заполярья, отметила, что кроме значительных колебаний среднесуточного уровня показателей свертывания крови, имеются довольно существенные изменения внутрисистемной синхронизации регулируемых параметров. Основными проявлениями этих изменений являются исчезновение статистически значимого 24-часового ритма, выраженный сдвиг акрофаз, появление статистически значимых 12-часовых ритмов. Относительная стабилизация временной организации показателей гомеостаза отмечается на 30-35 день вахты, а достаточно устойчивого состояния достигает к 45-му дню вахты [38].

При анализе ультрадианной ритмики локомоторной активности планарий при дополнительном действии ПеМП СНЧ в условиях ЭМЭ отмечено, что количество выявленных периодов в первый день воздействия в сравниваемых группах не совпадает, при этом не выявляется один ритм. Однако выявлено три совпадающих с контрольной группой периода продолжительностью  $\approx 6,3$ ,  $\approx 8,4$  и  $\approx 9,9$  часов, в то время ритм  $\approx 7,4 \pm 0,2$  часов характерен только для контрольных животных. Смещение доминирующего периода, который в обеих группах находился в значении  $\approx 6,3$  часов, не наблюдалось (рис. 3, А). Кроме того, в периодах  $\approx 6,3$ ;  $\approx 8,4$  и  $\approx 9,9$  часов наблюдались значительные сдвиги фаз на  $92,53^\circ$  ( $p < 0,05$ ),  $89,32^\circ$  ( $p < 0,05$ ) и  $68,81^\circ$  ( $p < 0,05$ ) соответственно.

На седьмые сутки эксперимента отмечено также три совпадающих с контрольной группой периода:  $\approx 6,1$ ;  $\approx 7,3$  и  $\approx 8,5$ , в то время как ритм  $\approx 10,2 \pm 0,03$  отмечен лишь в контроле. В этот срок наблюдения доминирующие ритмы в сравниваемых группах совпадали ( $\approx 6^h,1$ ), но при этом отмечалось полное

совпадение и их амплитуд (рис. 3, Б). Кроме того, в ритмах  $\approx 6,1$ ;  $\approx 7,3$  и  $\approx 8,5$  отмечалась лишь тенденция к сдвигам фаз на  $11,06^\circ$ ;  $11,34^\circ$  и  $31,34^\circ$ .

На 14-е сутки пребывания животных в условиях комбинированного воздействия ПеМП частотой 8 Гц и ЭМЭ отмечено полное совпадение выделенных ритмов в изучаемых спектрах:  $\approx 6,1$ ;  $\approx 7,3$ ;  $\approx 8,5$  и  $\approx 10,5$  часов. В сравниваемых группах совпадали и доминирующие ритмы ( $\approx 6^h, 1$ ) и их амплитуда (рис. 3, В). Кроме того, достоверный сдвиг фаз наблюдался в периодах  $\approx 7,4$  и  $\approx 8,5$  часов, которые составили  $254,9^\circ$  ( $p < 0,05$ ) и  $276,9^\circ$  ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при воздействии ПеМП СНЧ в условиях ЭМЭ экранообусловленные изменения ультрадианной ритмики значительно менее выражены. То есть ПеМП СНЧ корректирует изменения ультрадианной ритмики СД, обусловленных экранированием.

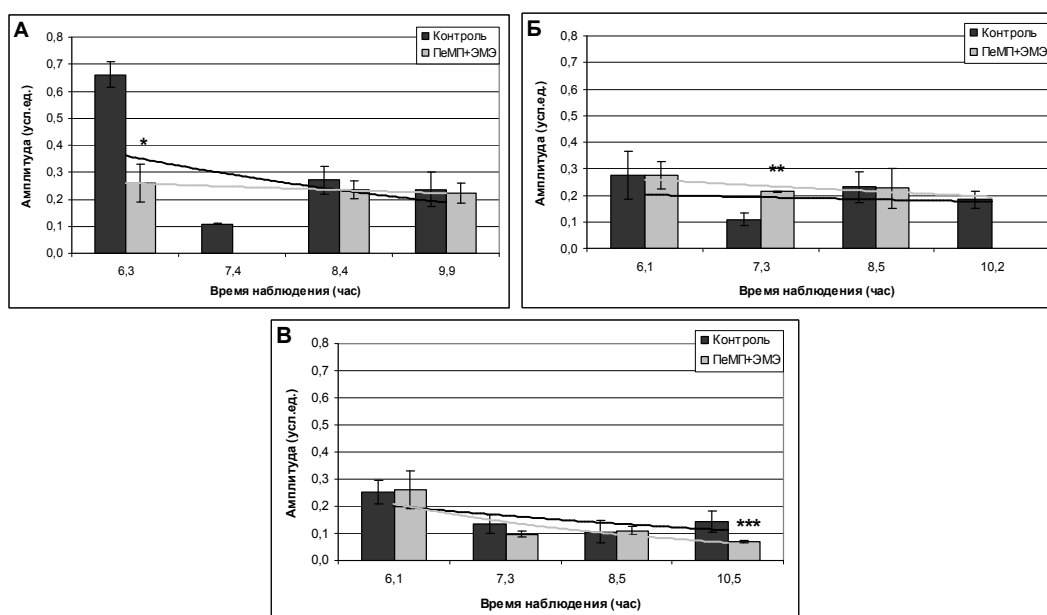


Рис. 3. Спектры периодов ультрадианных ритмов скорости движения интактных планарий и животных, подвергавшихся влиянию ПеМП частотой 8 Гц в условиях ЭМЭ в различные сроки эксперимента:

А – первый день; Б – седьмой день; В – 14-й день.

Примечание: \* – достоверность различий сравниваемых групп животных:

\* – ( $p < 0,001$ ); \*\* – ( $p < 0,01$ ); \*\*\* – ( $p < 0,05$ )

Как свидетельствуют данные литературы, ПеМП частотой 8 Гц корректирует изменения ритмики, вызванные другими причинами. Например, ранее нами была показана способность ПеМП корректировать изменения инфрадианной ритмики показателей системы крови крыс, чья двигательная активность ограничивалась (гипокинезия).

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о способности низкоинтенсивных ЭМ факторов изменять ультрадианную ритмику у беспозвоночных, в частности, у планарий.

### ВЫВОДЫ

1. У интактных планарий выявлена ультрадианная ритмика СД, которая характеризуется выраженной пластичностью, проявляющейся в виде варьирования состава периодов и их амплитуд.
2. Изменения ультрадианной ритмики в условиях слабого многодневного ЭМЭ заключаются в существенном изменении ультрадианной ритмики локомоторной активности планарий. Эти изменения заключаются в снижении амплитуд выделенных ритмов, которое прогрессирует с увеличением сроков наблюдения. Кроме того, ЭМЭ приводит к значительным сдвигам фаз, наиболее выраженных на первые сутки наблюдения. На 14-е сутки ритмические изменения практически нивелируются.
3. Слабое ПеМП частотой 8 Гц приводит к снижению амплитуды основного  $\approx$ 6-часового ультрадианного ритма, сдвигам фазы всех выделенных периодов. Выраженность изменений ритмических процессов уменьшается с увеличением числа воздействий ПеМП.
4. При воздействии ПеМП частотой 8 Гц на планарий, находящихся в условиях ЭМЭ, экранообусловленные изменения ультрадианной ритмики корректируются, что проявляется в частичной нормализации параметров ультрадианной ритмики.

### Список литературы

1. Алякринский Б.С. Адаптация в аспекте биоритмологии / Б.С. Алякринский // Проблемы временной организации живых систем (под ред. А.М.Генина). – М., 1979. – С. 8–36.
2. Алякринский Б.С. Биологические ритмы и организация жизни человека в космосе / Алякринский Б.С. – М.: Наука, 1983. – 246 с.
3. Ашофф Ю. Биологические ритмы / Ашофф Ю. – М.: Мир, 1984. – Т. 1. – 414 с.
4. Агаджанян Н.А. Биоритмы, спорт, здоровье / Н.А. Агаджанян, Н.Н. Шабатура – М.: Физкультура и спорт, 1989. – 208 с.
5. Halberg F. Organisms as circadian systems; temporal analysis of their physiologic and pathologic responses; including injury and death / F. Halberg // Symp. med. aspects stress milit. climate. – Wash. (D. C.). – 1993. – P. 1–36.
6. Aschoff J. On the fling of circadian systems / J. Aschoff // Evolution of circadian clock. – Sapporo, 1994. – P. 23–24.
7. Деряпа П.Р. Проблемы медицинской биоритмологии / Деряпа П.Р., Мошкин Н.П., Посный В.С. – М.: Медицина, 1985. – 208 с.
8. Владимирский Б.М. Солнечно-земные связи в биологии и явление «захвата» частоты / Б.М. Владимирский // Проблемы космической биологии. – 1982. – №. 43. – С. 166–173.
9. Проблемы космической биологии. Биологические ритмы / [Романов Ю.А., Чепурнов С.А., Клевезаль Г.А. и др.] – М.: Наука, 1980. – Т.41. – 319 с.
10. Хроноструктура биоритмов сердца и факторы внешней среды. Монография. / [Бреус Т.К., Чибисов С.М., Баевский Р.М., Шебзухов К.В.] – М.: изд-во Российского университета дружбы народов; изд-во Полиграф сервис, 2002. – 232 с.
11. Темурьянц Н.А. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире / Темурьянц Н.А., Владимирский Б.М., Тишкин О.Г. – Киев, Наукова думка, 1992. – 188 с.

12. Использование планарий для изучения действия экологических факторов / Н.А. Темурьянц, Н.А. Демцун, Н.С. Ярмолюк [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – Том 22 (61). – 2009. – № 1. – С. 78–86
13. Jenrow K.A. Weak Extremely Low Frequency Magnetic Fields and Regeneration in the Planarian *Dugesia tigrina* / K.A. Jenrow, C.H. Smith, A.R. Liboff // *Bioelectromagnetics*. – 1995. – V. 16. – P. 106–112.
14. Ермаков А.М. Модификация влияния фармакологических агентов на регенерацию планарий с помощью слабых переменных магнитных полей / А.М. Ермаков, О.Н. Ермакова, В.В. Леднев // Сборник тезисов IV Международного Конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». – СПб. – 2006. – С. 110
15. Novikov V.V. Effect of weak static and low-frequency alternating magnetic fields on the fission and regeneration of the planarian *Dugesia (Girardia) tigrina* / V.V. Novikov, I.M. Sheiman, E.E. Fesenko // *Bioelectromagnetics*. – 2008. – V. 29, № 5. – P. 387–393.
16. Acetylcholine/dopamine interaction in planaria / F.R. Buttarelli, F.E. Pontieri, V. Margotta [et al.] // *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* – 2000 – Vol. 125(2) – P. 225–231
17. Opioid-dopamine interaction in planaria: a behavioral study / F. Passarelli, A. Merante, F.E. Pontieri [et al.] // *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* – 1999 – Vol. 124(1) – P. 51–55.
18. A cembranoid from tobacco prevents the expression of nicotine-induced withdrawal behavior in planarian worms / O.R. Pagán, A.L. Rowlands, A.L. Fattore, T. Coudron [et al.] // *Eur J Pharmacol*. – 2009 – Vol. 615(1-3) – P. 118–124.
19. Baguna J. Quantitative analysis of cell types during growth, degrowth and regeneration in the planarians *Dugesia mediterranea* and *Dugesia tigrina* / J. Baguna, R. Romero // *Hydrobiologia* 84 – 1981. – P. 181–194
20. Демцун Н.А. Динамика скорости движения планарий, регенерирующих в условиях электромагнитного экранирования / Н.А. Демцун, Н.А. Темурьянц, М.М. Баранова // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22 (61), № 2. – С. 24–32.
21. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных: приспособление и среда / К. Шмидт-Ниельсен – М: «Мир», 1982. – Т.2. – С. 555–643.
22. Tubulin assembly is disordered in a hypogeomagnetic field / Dong Liang Wang, Xing Sheng Wang, Rong Xiao [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2008. – Vol. 376. – P. 363–368.
23. Денисенкова И.В. Стимулированная локомоторная активность планарии *Dugesia tigrina* в естественном магнитном поле и при его компенсации / И.В. Денисенкова, Г.М. Пискунова, Н.К. Чемерис // *Вестник новых медицинских технологий* – 1997. – Т.4, № 4. – С. 56–60.
24. Патент № 98095 Украины МПК51 А 01 К 61/00. Способ определения скорости движения интактных и регенерирующих планарий / Темурьянц Н.А., Баранова М.М., Демцун Н.А.; заявитель и правообладатель Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского. – № U 200908540; заявл.: 13.08.2009; опубл. 10.03.2010, Бюл.№5.
25. Демцун Н.А. Сезонные различия регенерации планарий *Dugesia tigrina* при электромагнитном экранировании : автореф. дис. на соискание научн. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных» / Н.А. Демцун. – Симферополь, 2010. – 20 с.
26. Метод получения крайне слабых постоянного магнитного и электрического полей и хорошо воспроизводимого комбинированного магнитного поля для биологических исследований / Н.И. Богатина, Н.В. Шейкина, В.С. Мартынюк [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им.В.И. Вернадского. Серия «Биология. Химия». – 2010. – Т.23, №2. – С. 125.
27. Schumann W.O. Uber die Dämpfung der electromagnetischen Eigenwingungen des Systems Erde-Luft-Ionosphere / W.O. Schumann // *Naturwissenschaft*. – 1982. – Vol. 7a. – P. 250–254.
28. Сидякин В.Г. Влияние глобальных экологических факторов на нервную систему / Сидякин В.Г. – Киев.: Наукова думка, 1986. – 160 с.
29. Polk G. Resonances of ears ionosphere cavity – extremely low frequency reception at Kingston / G. Polk, F. Fitchen, W.O. Schumann // *Radio Propagation*. – 1962. – Vol. 3(66). – P. 313.
30. Емельянов И.П. Формы колебания в биоритмологии / Емельянов И.П. – Новосибирск: Наука, 1976. –127 с.

31. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. – К: Модмон, 2000. – 319 с.
32. Мартынюк В.С. Временная организация живых организмов и проблема воспроизводимости результатов магнитобиологических исследований / В.С. Мартынюк // Биофизика. – 1995. – Т. 40, № 5. – С. 925–927.
33. Мартынюк В.С. Внутрисуточные гео- и гелиофизически значимые периоды в интегральном ритме двигательной активности животных / В.С. Мартынюк // Биофизика. – 1998. – Т.43, №. 5. – С. 789–796.
34. Мартынюк В.С. Влияние слабых переменных магнитных полей инфранизких частот на временную организацию физиологических процессов: Автореф. дисс.... канд. биол. наук: 03.00.02 / В.С. Мартынюк – Симферополь, 1992. – 15 с.
35. Бородин Ю.И. Реакция циркадианных ритмов лимфоидной системы на глубокое экранирование от геомагнитного поля Земли / Ю.И. Бородин, А.Ю. Летагин // Бюллетень экологической биологии и медицины. – 1990. – № 2. – С. 191–193.
36. Wever R.A. The circadian system of man: Results of experiments under temporal isolation / Wever R.A. // New-York: Springer, 1979. – 276 p.
37. Космос и биологические ритмы / [Владимирский Б.М., Сидякин В.Г., Темурьянц Н.А. и др.] – Симферополь, 1995. – 206 с.
38. Фатеева Н.М. Временная организация системы гемостаза в условиях крайнего Севера при вахтово-экспедиционной форме производственной деятельности / Н.М. Фатеева // Мастер.1-ой Всеросс. Науч. Конф. “Образ жизни и здоровье студентов” М. – 1995. – С. 236–238.

**Темур'янц Н.А. Вплив слабких електромагнітних факторів на ультрадіанну ритміку локомоторної активності планарій *Dugesia tigrina* / Н.А. Темур'янц, В.С. Мартинюк, Н.С. Ярмолюк, О.В. Шехоткін // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 268-278.**

Виявлена ультрадіанна ритміка швидкості руху планарій *Dugesia tigrina*. При слабкому електромагнітному екрануванні, дії слабких змінних магнітних полів наднизької частоти спостерігаються її зміни, що виражаються у виражених перебудовах спектрів потужності, зрушення фаз і амплітуд виділених періодів. На першу, сьому і 14-у добу впливу електромагнітних факторів ці зміни виражені по-різному. Максимальні зміни відзначені на першу добу спостереження, в подальші терміни ультрадіанна ритміка нормалізується.

**Ключові слова:** планарії *Dugesia tigrina*, швидкість руху, ультрадіанна ритміка, змінне магнітне поле наднизької частоти, електромагнітне екранування.

**Temuryants N.A. The effect of weak electromagnetic factors in ultradian rhythms of locomotor activity of planarians *Dugesia tigrina* / N.A. Temuryants, V.S. Martynyuk, N.S Yarmolyuk, A.V Shehotkin // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 268-278.**

Revealed ultradian rhythms speed planarian *Dugesia tigrina*. In a weak electromagnetic shielding, the action of weak alternating magnetic fields of extremely low frequency of observed changes, reflected in pronounced modifications of the power spectra, phase shift and amplitude of the selected periods. At first, seventh and 14th day of exposure to electromagnetic factors, these changes are expressed in different ways. Maximum changes occurred on the first day of observation, and further periods of ultradian rhythm to normal.

**Keywords:** planarian *Dugesia tigrina*, speed, ultradian rhythm, alternating magnetic field of low frequency, electromagnetic screening.

Поступила в редакцію 12.06.2011 г.

**УДК 528.675.1:57.086.83**

**РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР  
*CLEMATIS VITALBA* НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, СОДЕРЖАЩИХ  
МАРГАНЕЦ**

*Теплицкая Л. М., Заяц А.Ю., Юркова И.Н., Сидякин А.И.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадського, Симферополь, Украина  
E-mail: zayats.alex@i.ua*

Исследованы ростовые характеристики каллусных культур *Clematis vitalba* L. на модифицированных питательных средах Гамборга и Эвелера, дополненных марганцем. Установлено что ростовой индекс зависит от концентрации марганца в питательных средах. Максимальный ростовой индекс (13,52) наблюдался на питательных средах, содержащих 10 мг Mn /дм<sup>3</sup>.

**Ключевые слова:** *Clematis vitalba*, каллусная культура, марганец.

**ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время из лекарственных растений получают более трети фармакологических препаратов. Структура многих настоек сложна, что растения еще долго будут служить их единственным источником [1].

По сравнению с интактными растениями культура клеток и тканей имеют ряд преимуществ:

- получение экологически чистой биомассы
- синтез новых веществ, не содержащихся в интактном растении
- сохранение генофонда лекарственных растений [2].

Одной из ценных лекарственных культур является ломонос винаградолистный – продуцент уникального комплекса биологически активных веществ, в том числе тритерпеновых гликозидов – витальбозидов с широким спектром фармакологического действия [3, 4].

Микроэлементам принадлежит важная роль в жизнедеятельности клетки. Они избирательно накапливаются в фитомассе, активирует ферменты катализирующие многочисленные реакции углеводного, белкового и фосфорного обмена. Среди микроэлементов особенно дефицит марганца отрицательно сказывается на стабильности мембран нервных клеток и нервной системы в целом [5].

Целью настоящей работы было исследование влияния марганца на ростовые характеристики каллусных культур ломоноса виноградолистного

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для проведения исследований служили длительно пассируемые каллусные культуры ломоноса виноградолистного *Clematis vitalba* L. IV пассажа. При выполнении работы использовали методы, общепринятые в исследованиях по культуре изолированных тканей растений [6]. Каллусные культуры выращивали в течение 7-10 недель на модифицированной агаризованной питательной среде Гамборга и Эвелега (МП 1/28) (табл. 1), дополненной или хлоридом марганца (II), в концентрациях от 1 до 10 мг Mn/дм<sup>3</sup>,

Каллус культивировали в темноте, в условиях термостате 25 °С при влажности воздуха 65-70 %.

Ростовой индекс определяли морфометрическим методом по отношению среднего объема полученного каллуса к объему транспланта еженедельно.

**Таблица 1.**  
**Состав питательной среды для культивирования каллусной культуры *C. vitalba***

Компоненты среды	Концентрация в среде, мг/л
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	500
KNO <sub>3</sub>	2500
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	134
CaCl <sub>2</sub> ×2H <sub>2</sub> O	150
MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	250
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O	300
Na <sub>2</sub> EDTA×2H <sub>2</sub> O	37,3
FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	28,0
MnSO <sub>4</sub> ×4H <sub>2</sub> O	13,2
ZnSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	2,0
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3,0
CuSO <sub>4</sub> ×5H <sub>2</sub> O	0,025
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ×2H <sub>2</sub> O	0,25
CoCl <sub>2</sub> ×2H <sub>2</sub> O	0,025
KI	0,75
Никотиновая кислота	0,25
Тиамин-НCl	0,05
Пиридоксин-НCl	0,25
Аскорбиновая кислота	10,0
Сахароза	50000
Агар-агар	7000-8000

Полученные данные обработаны статистически с использованием стандартного пакета статистики в Microsoft Office.



### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было выяснено, что каллус, выращенный на контрольном варианте среды (без марганца) имел следующую динамику роста: лаг-фаза продолжалась в течение первой недели культивирования; экспоненциальная – со второй по седьмую недели культивирования; стационарная фаза наступала на 8 неделю. Индекс роста (ИР) в контрольном варианте составил 3,62 (рис. 1).

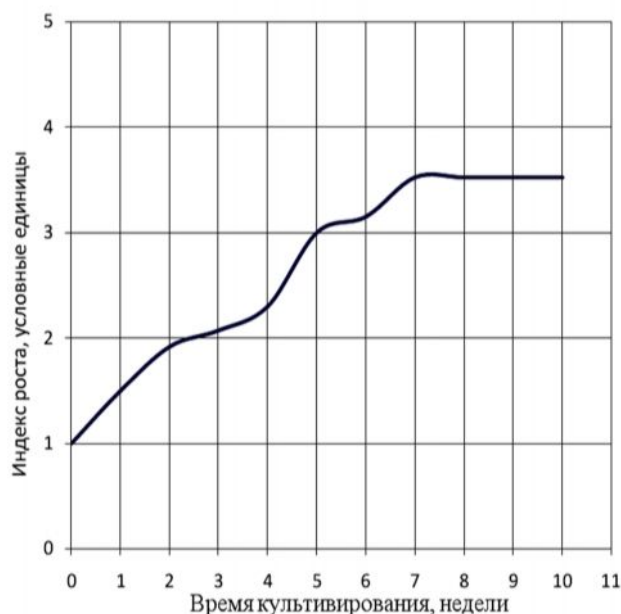


Рис. 1. Индекс роста для каллусных культур, выращенных на питательной среде без марганца

Динамика роста каллусных культур, выращенных на средах обогащенных марганцем, характеризовалась следующими временными интервалами кривой роста.

Для каллусов, выращенных на средах, дополненных 1,0 мг Mn /дм<sup>3</sup>, лаг-фаза продолжалась более 1 недели, линейная – со 2 по 8 неделю включительно, стационарная фаза не выявлена и культура клеток сразу переходила в фазу деградации.

Для каллусов, выращенных на средах, дополненных 5,0 мг Mn /дм<sup>3</sup>, лаг-фаза продолжалась 2 недели, линейная – с 3 по 9 неделю включительно, а стационарная фаза начиналась с 9 недели.

Для каллусов, выращенных на средах, дополненных 10,0 мг Mn /дм<sup>3</sup>, лаг-фаза продолжалась 1 неделю, линейная – со 2 по 8 неделю включительно, на стационарную фазу культура клеток вышла к 9 неделе.

Ростовые индексы для каллусов, выращенной на питательных средах, дополненных марганцем составили, соответственно, при концентрации 1мг Mn/ дм<sup>3</sup> – 4,34; 5 мг Mn/ дм<sup>3</sup> – 7,08 и 10 мг Mn/ дм<sup>3</sup> – 13,52 (рис. 2).

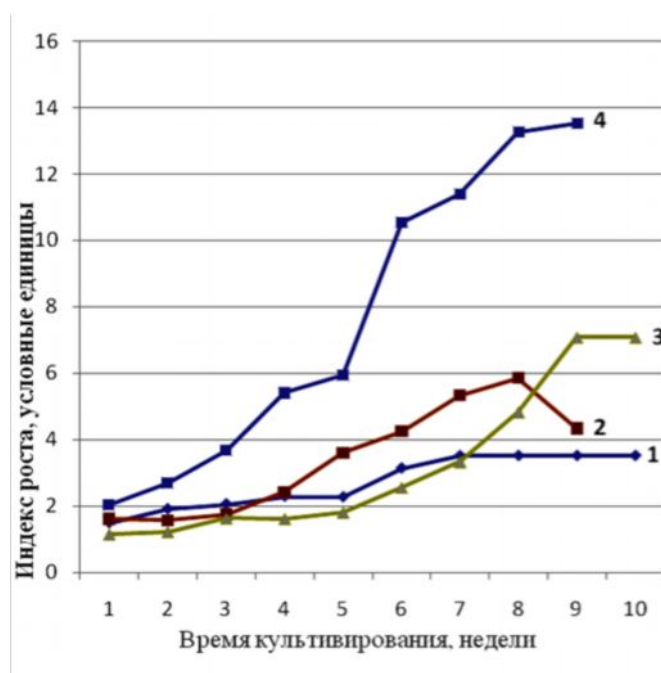


Рис. 2. Динамика роста каллусных культур *Clematis vitalba* зависимости от условий внесения марганца в питательную среду:  
 1 – контроль (без Mn); 2 – 1,0 мг Mn /дм<sup>3</sup>; 3 – 5,0 мг Mn /дм<sup>3</sup>; 4 – 10,0 мг Mn /дм<sup>3</sup>

### ВЫВОДЫ

1. показано стимулирующее влияние Mn на ростовые параметры каллусной культуры. Ростовой индекс каллусной культуры на питательной среде с концентрацией 10 мг Mn/ дм<sup>3</sup> составил 13,52.
2. Отмечено изменение длительности культивирования на средах содержащих Mn до 54-64 дней, в сравнении с контрольным вариантом опыта, длительность культивирования которого составила 7 недель (50 дней), в связи с увеличением длительности экспоненциальной фазы.

### Список литературы

1. Пасешниченко В.А. Растения – продуценты биологически активных веществ / В.А. Пасешниченко // Сорос, образоват. ж-л. – 2001 – Т.7, №8 – С.13-19
2. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіологічні основи./ Кунах В.А. – К.: Логос.- 2005. – 724 с.
3. Головкин Б. Н. Биологически активные соединения растительного происхождения: в 3-х т. / [Б. Н. Головкин, Р. Н. Руденская, И. А. Трофимов и др.]. – М.: Наука, 2001 – 2002. – Т. 1. – 2001. – С. 103, 105, 113. Головкин Б. Н. Биологически активные соединения растительного происхождения: в 3-х т. / [Б. Н. Головкин, Р. Н. Руденская, И. А. Трофимов и др.]. – М.: Наука, 2001 – 2002. – Т. 2. – 2002. – С. 214, 281, 263.

4. Мельников В. Н. Химическое исследование гликозидов ломоноса виноградолистного: автореф. дис. на соиск. уч. степ. канд. хим. наук: спец. 02.00.10 – биоорганическая химия / Мельников В. Н. – Черновцы, 1974. – 18 с.
5. Битюцкий Н.П. Микроэлементы и растение / Битюцкий Н.П. – СПб. : издательство СПГУ, 1999 - 230 с.
6. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – Киев.: Наук. думка, 1986. – С. 34–36.

**Теплицька Л.М. Рости характеристики калусних культур *Clematis vitalba* на живильних середовищах, доповнених манганом. / Л.М. Теплицька, О.Ю. Заяць, І.М. Юркова, А.І. Сідякін // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 279-283.**

Досліджено рости характеристики калусних культур *Clematis vitalba* на модифікованих агаризованих живильних середовищах Гамборга і Евелєга, доповнених марганцем. Встановлено, що рости індекс залежить від концентрації марганцю у модифікованих живильних середовищах. Максимальний рости індекс (13,52) спостерігався на модифікованих живильних середовищах, що містили 10 мг Mn / dm<sup>3</sup>.

**Ключові слова:** *Clematis vitalba*, калусна культура, манган.

**Teplitskaya L. Growth characteristics of callus cultures *Clematis vitalba* on cultures media containing selenium and manganese. / L. Teplitskaya, A. Zayats, I. Yurkova, A. Sidiyakin // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 279-283.**

The growth characteristics of callus cultures of *Clematis vitalba* on the modified solid media of Gamborg and Eveleg supplemented with manganese were under study. It was established that the growth index depends on the concentration of manganese in the solid media. The maximum growth index (13.52) was observed on the solid media containing 10 mg Mn / dm<sup>3</sup>.

**Keywords:** *Clematis vitalba*, callus culture, manganese.

*Поступила в редакцію 12.06.2011 г.*

**УДК 582.736.3:057.086.83/88**

## **ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ ДОННИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*MELILOTUS OFFICINALIS* (L.) PALL.) И ЕЕ ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ**

*Теплицкая Л.М., Юркова И.Н., Сидякин А.И., Жупанов И.В.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадського, Симферополь, Украина  
E-mail: vanabis@list.ru*

Исследованы особенности индукции каллусогенеза в культуре вегетативных и генеративных органов *Melilotus officinalis*. Подобранны модификации питательных сред Мурасиге и Скуга для индукции каллусогенеза. Проведен цитоморфологический анализ пассированных каллусных культур и показан их низкий морфогенетический потенциал.

**Ключевые слова:** *Melilotus officinalis*, каллусная культура, цитоморфологический анализ.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Человек использует растения в хозяйственной деятельности с давних времен. Сначала в пищу, позже – как лекарственное сырьё, красители и текстильные материалы. Издавна стоял вопрос наиболее быстрого и дешевого получения растительного сырья с целью удовлетворения потребностей в нем. В наше время это позволяют сделать биотехнологические методы, которые начали развиваться с начала XX века..

Одним из перспективных направлений биотехнологии является культура растительных тканей и клеток. Клеточные технологии, основанные на культивировании *in vitro* органов, тканей и клеток растений, могут облегчить и ускорить традиционный процесс получения различных веществ растительного происхождения [1].

Наряду с основными классами соединений (белки, жиры, углеводы) в растениях также содержатся вторичные метаболиты, макро- и микроэлементы, способные оказывать существенное влияние на организм человека. Одним из перспективных микроэлементов является селен. Считают, что он обладает противораковой активностью, ранее этому элементу ошибочно приписывались канцерогенные свойства. Установлено, что селен оказывает существенное влияние на состояние сердечно-сосудистой системы. Полагают, что совместно с витамином Е он стимулирует образование антител, тем самым увеличивая иммунные силы организма [2, 3].

Содержание селена в растениях в большинстве случаев тесно связанный с его концентрацией в почве [3]. Некоторые растения способны накапливать

значительные количества этого элемента. Их называют селеноаккумуляторы. *Melilotus officinalis* является одним из перспективных аккумуляторов селена. В связи с этим актуальным является получение каллусных культур донника лекарственного и исследования влияния селена на их цитоморфологические особенности.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили вегетативные и генеративные органы *M. officinalis*. В качестве эксплантов были использованы завязи, семядоли, листья, семена, стебли и корни интактного растения.

Для соблюдения условий асептики работу по введению в изолированную культуру выполняли в условиях ламинарного бокса. Поверхностную стерилизацию материала проводили 96% этанолом, 0,01 %  $\text{KMnO}_4$ , 3 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  и брадофеном.

Экспланты культивировали на агаризованных модифицированных питательных средах Мурасиге-Скуга (MS) и Гамборга-Эвелеге (B5), дополненных ИУК (индолил-3-уксусная кислота), 2,4-Д (2,4-дихлорфенилуксусная кислота), 6-БАП (6-бензиламинопуридин) и кинетин. В качестве источника селена использовали  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (ч.д.а.) в концентрации 2,0 мг/л по селену. Полученный первичный каллус субкультивировали на питательные среды того же состава. Цикл выращивания культур составлял 50 суток. В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2x20 см, содержащие 15 мл питательной среды. Экспланты культивировали при температуре 23-25 °С в темноте. Частоту каллусообразования оценивали в процентах по количеству эксплантов, давших каллус, от общего числа эксплантов [4, 5].

Цитоморфологические исследования проводились на давленных препаратах по стандартным методикам [6, 7]. Для проведения цитологических исследований каллус фиксировали по Карнуа (этанол-ЛУК-хлороформ – 6:3:1 или этанол-ЛУК – 3:1) в течение 12 часов при комнатной температуре или 24 часа при температуре 4-6 °С. Фиксированный материал промывали в 3-4 порциях 70 % этилового спирта и хранили в 70 % растворе этанола.

Для окрашивания использовали 1 % раствор ацетокармина [7]. Исследования препаратов проводили на микроскопе МРІ-5, с окуляром 10x. Проведение микрофото съемки осуществляли цифровой фотокамерой Canon PowerShot A 480.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования по индукции каллусогенеза в культуре вегетативных и генеративных органов *M. officinalis* показали, что этот процесс в значительной степени зависит от условий стерилизации, состава питательной среды и типа используемого экспланта.

Результаты наших исследований показали, что оптимальным типом экспланта являются семена (рис. 1.), из введенных в культуру жизнеспособными являлись около 60%. Листья, завязи, семядоли и стебли при введении в культуру *in vitro* витрифицировались и погибали на 5-15 сутки культивирования, тогда как введенные в культуру семена оказались способными к каллусогенезу.

Таблица 1.

Подбор оптимального типа экспланта *M. officinalis*

№ п/п	Эксплант	Количество эксплантов, %		
		Погибших	Стерильных и жизнеспособных	Способных к каллусогенезу
1	Завязь	100	0	0
2	Семядоля	100	0	0
3	Лист	100	0	0
4	Семя	40	60	60
5	Стебель	98	2	2
6	Корень	100	0	0
7	Латеральные почки	0	100	0

Для получения стерильного посадочного материала *M. officinalis* нами были испробованы несколько вариантов стерилизации. С целью снижения травмирующего действия и достижения полноты стерилизующего эффекта были опробованы пять вариантов ступенчатой стерилизации исходного материала.

Стерилизацию эксплантов осуществляли по следующим схемам:

**I** – 96% этанол – 1 мин;

**II** – 0,01 %  $\text{KMnO}_4$  – 30 мин; 3 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  – 3 мин;

**III** – 0,01 %  $\text{KMnO}_4$  – 30 мин; 70 % этанол – 1 мин; 3 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  – 3 мин;

**IV** – 0,1 %  $\text{KMnO}_4$ (+1 капля Tween x100 на 100 мл раствора) – 45 мин; 3 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  – 3 мин;

**V** – 100% брадофен – 5 мин.

Максимальное количество асептических эксплантов получено при стерилизации, проводимой по следующей схеме: 96% этанол в течение 1 мин. При этом жизнеспособными являлись 90% эксплантов. Остальные виды стерилизации были менее эффективны или приводили к гибели экспланта, либо к его заражению (табл. 2).

Таблица 2.

## Влияние стерилентов на жизнеспособность и каллусогенез

Вариант стерилизации	Количество эксплантов, %	
	стерильных	способных к каллусогенезу
I	98	90
II	50	0
III	50	0
IV	60	0
V	60	55

Для индукции каллусогенеза у первичных эксплантов *M. officinalis* нами были использованы различные модификации базовых питательных сред Мурасиге-Скуга и Гамборга-Эвелега.

Таблица 3.

**Модификации питательных сред  
используемых для культивирования *M. officinalis***

№ п/п	Концентрация в среде, мг/л					Частота каллусообразования %
	Минеральная основа	6-БАП	2,4-Д	Кинетин	Сахароза	
1	В5	0,5	2	0,5	20	0
2	В5	0,5	2	-	40	0
3	МС	0,5	2	0,5	20	0
4	МС	0,5	2	-	30	60
5	МС	0,5	2	0,5	30	30
6	МС	0,5	2	-	40	0

Согласно полученным данным, максимальная жизнеспособность эксплантов (60%) была отмечена на среде МС с половинной концентрацией макро и микросолей, содержанием сахарозы 30 г/л, 6-БАП 0,5 мг/л, 2,4Д 2 мг/л, а также на среде МС с половинной концентрацией макро и микросолей 30 г/л сахарозы 6-БАП 0,5 мг/л, 2,4Д 2 мг/л, кинетин 0,5 мг/л. На этих средах наблюдались процессы каллусогенеза на 7 сутки культивирования. Для индукции каллусогенеза у первичных эксплантов *M. officinalis* были использованы различные модификации базовых питательных сред Мурасиге-Скуга и Гамборга-Эвелега.

Каллус, индуцированный из семян *M. officinalis* (рис. 2. а), имел светло-желтую окраску, характеризовался рыхлой консистенцией, был достаточно оводнен. При визуальном анализе каллусных культур нами не были выявлены признаки морфогенеза, каллус отличался относительной гомогенностью структуры. После 30 суток культивирования каллус пересаживали на свежую питательную среду. Для пассирования каллуса использовали среды того же состава что и для индукции первичного каллуса. Пассированный каллус морфологически не отличался от первичного (рис. 2. б).

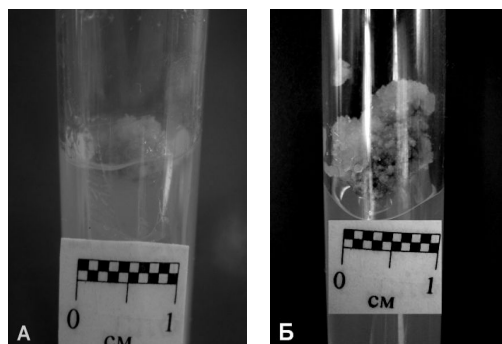


Рис. 1. Каллус *M. officinalis* а – первичный; б – пассированный

При цитоморфологическом исследовании полученных каллусных культур нами были выявлены следующие типы клеток:

- 1) паренхимного типа – различные по форме и размерам, более крупные, чем меристематические, с невысоким плазмменно-ядерным соотношением, со слабо окрашивающейся цитоплазмой и интенсивно или слабо окрашивающейся клеточной стенкой (рис. 2. а).
- 2) меристематического типа – сравнительно мелкие, изодиаметрической формы, с высоким ядерно-плазменным соотношением, интенсивно окрашенными цитоплазмой и ядром, за счет делений которых осуществляется рост каллусной культуры (рис. 2. б);

При проведении исследований также были выявлены очаги гистогенеза – трахеидоподобные элементы (рис 3.).

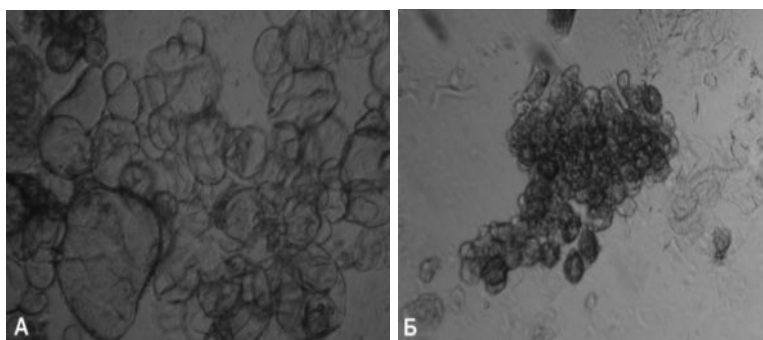


Рис. 2. Клетки каллуса *M. officinalis*: а – паренхимные, б – меристематические (ув. 10×12).



Рис 3. Трахеидоподобные элементы каллусной культуры *M. officinalis*(ув. 10×12)

Были идентифицированы следующие формы паренхимных клеток:

- а) округлые (рис. 4. а);
- б) вытянутого типа: «вытянутой» и «червеобразной» формы (рис. 4. б);
- в) гигантские (рис. 4. в).



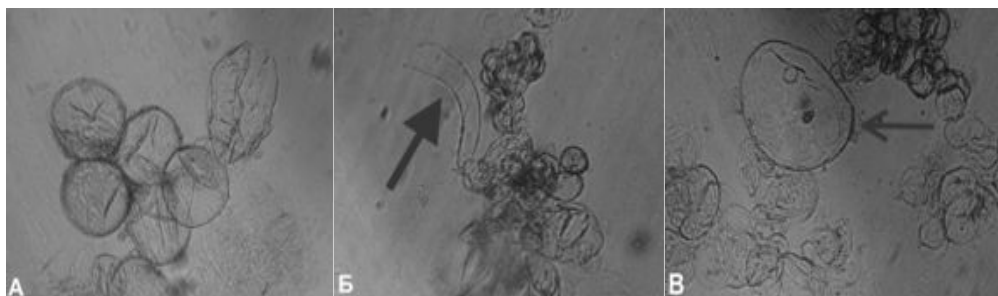


Рис. 4. Паренхимные клетки каллуса донника лекарственного: «округлые» (а), «червеобразные» (б), гигантские (в) (ув. 10×12).

Для описания физиологического состояния клеточной популяции в условиях *in vitro* нами было проведено исследование количественных соотношений различных групп клеток в составе клеточных популяций.

Было исследовано количественное соотношение различных типов клеток в одном поле зрения микроскопа у каллусов третьего пассажа, культивируемых на питательной среде без селена и на питательной среде с концентрацией селена 2 мг/л.

Полученные результаты (рис. 5.), свидетельствуют о том, что значительная часть каллуса, образование которого инициировано из семян на модифицированной среде МС, дополненной 0,5 мг/л 6-БАП, 2,0 мг/л 2,4Д, представлена округлыми клетками (80,4 %). Однако в данной каллусной культуре также присутствует определённое количество (16%) трахеидоподобных элементов. Количество клеток других типов было незначительным.

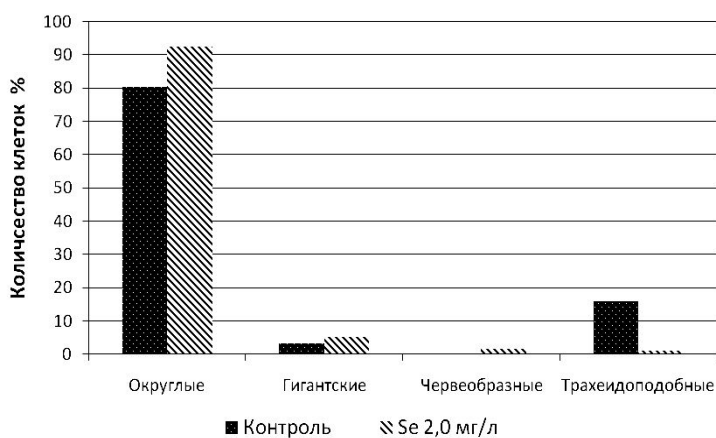


Рис. 5. Цитоморфологические параметры каллусных культур *M. officinalis*.

У каллусной культуры, выращенной на питательной среде того же состава, дополненной Se в концентрации 2,0 мг/л, цитоморфологическая картина схожая (рис 3.6.), однако, количество трахеидоподобных элементов значительно меньше, нежели у контрольного каллуса (1%), а количество округлых клеток возросло

(92,3%). Большое количество округлых клеток может говорить о способности каллуса к синтезу и накоплению вторичных метаболитов.

### ВЫВОДЫ

1. Подобраны составы питательных сред для индукции каллусогенеза и получения каллусной культуры из эксплантов вегетативных и генеративных органов *Melilotus officinalis*.
2. Показано, что первичные и пассируемые каллусные культуры отличаются низким уровнем морфогенетического потенциала.
3. Показано, что основную массу клеток пассированных каллусных культур *M.officinalis* составляют паренхимные клетки округлого типа.

### Список литературы

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
2. Запрометов М. Н. Вторичный метаболизм и его регуляция в культурах клеток и тканей растений / М. Н. Запрометов // Культура клеток растений: [сб. статей под. ред. Р. Г. Бутенко]. – М.: Наука, 1981. С 37 – 50.
3. Селен в депонирующих средах Нечерноземной зоны Европейской части России и агрохимический метод коррекции дефицита селена / Торшин С.П., Удельнова Т.М., Конова Н.И. [и др.] // Экология. - 1996. - № 4. - С. 253-258.
4. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. – К. : Наукова думка, 1980. – 488 с.
5. Культура клеток растений : [Сб. ст.] / АН СССР, Ин-т физиологии им. К. А. Тимирязева, Отв. ред. Р. Г. Бутенко. – М. : Наука, 1981. – 168 с.
6. Дженсен У. Ботаническая гистохимия: [пер. с англ. и предисл. Н.В. Цингер]. – М.: Мир, 1965. – 352 с.
7. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Колос, 1970. – 225 с.

**Теплицкая Л.М. Отримання калусної культури буркуна лікарського (*Melilotus officinalis* (L.) Pall.) та її цитоморфологічні особливості. / Л.М. Теплицкая, І.М. Юркова, А.І. Сідякін, І.В. Жупанов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 284-290.**

Досліджені особливості індукції калусогенеза в культурі вегетативних і генеративних органів *Melilotus officinalis*. Підібрано модифікації поживних середовищ Мурасіге і Скуга для індукції калусогенеза. Проведено цитоморфологічний аналіз калусних культур, і показано їх низький морфогенетичний потенціал.

**Ключові слова:** *Melilotus officinalis*, калусна культура, цитоморфологічний аналіз.

**Teplititskaya L. Receipt of callus cultures of *M. officinalis* and them cytomorphological features. / L. Teplititskaya, I. Yurkova, A. Sidiyakin, I. Zhupanov // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 284-290.**

The features of callus induction in the culture of vegetative and generative organs of *Melilotus officinalis* were investigate .Modifications of nutrient soil of Murashige and Skoog (MS) for callus induction were chosen. Cytomorphological analysis of transplanted callus cultures was carry out. Its morphogenetical potential low was exhibit.

**Keywords:** *Melilotus officinalis*, callus culture, cytomorphological analysis.

Поступила в редакцію 12.06.2011 г.

УДК 577.15:591.466(043.5)

## РЕГУЛЯЦІЯ ТІАМІНОМ І ЙОГО ПОХІДНИМИ АКТИВНОСТІ КАТЕПСИНУ L

Устянська О.В.<sup>1</sup>, Бокал І.І.<sup>2</sup>, Шварцова О.В.<sup>1</sup>, Петров С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова, Одеса, Україна

<sup>2</sup>Військово-медичний центр Південного регіону м. Одеси, Одеса, Україна

E-mail: ustjansky\_olga@ukr.net

В роботі вивчений вплив тіаміну і деяких його метаболітів на активність частково очищеного препарату катепсину L. Встановлено, що тіамін і тіохром можуть служити ефекторами для катепсину L шляхом специфічного приєднання по тіолдисульфідному механізму, що призводить до активації ферменту.

**Ключові слова:** тіамін та його метаболіти, сірковміщуючі сполуки, частково очищений препарат катепсину L.

### ВСТУП

Доведено, що багатопланові фізіологічні і біохімічні ефекти тіаміну не можуть бути пов'язані тільки з його коферментними функціями. Завдяки численним роботам вітчизняних і зарубіжних вітамінологів і нашої лабораторії [1–4], встановлені деякі біохімічні процеси, які підлягають некоферментній регуляції самим тіаміном і такими його метаболітами як ТПФ, тіохром та 4-метил-5β-оксиетілтіазол.

Менш за все дослідженим питанням в цій проблемі є некоферментна регуляція тіаміном і його метаболітами активності протеолітичних ферментів.

Особливе місце в сучасних уявленнях про роль тіолових груп у ферментативному каталізі належить тіоловим ферментам. Ці ферменти каталізують багато біохімічних реакцій, які визначають стан основних шляхів обміну речовин – вуглеводного, білкового та ліпідного [5].

Серед тіолових ферментів особлива роль належить катепсинам. Це пов'язано з декількома їх властивостями. Насамперед, саме цей клас протеїназ запускає каскад протеолітичних процесів в клітині; вони являються протеїназами, які здатні розщеплювати великий спектр клітинних білків. Катепсини є регуляторними ферментами, які здатні реагувати на зміну хімічного складу клітини [6–8].

Катепсин L в системі катепсинів є одним з найактивніших ферментів, що вносить вирішальний вклад до ініціації протеолізу [9–11]. Крім того можна припустити, що тіолові протеїнази, активність яких залежить від наявності сульфгідрильних груп в структурі молекули, можуть бути регульованими тіаміном і його метаболітами, оскільки відомо, що один із способів протеїдізації тіаміну полягає в розкритті його тіазолового кільця з утворенням тіамінтіолу і надалі змішаних тіаміндисульфідів [1, 12].

Метою нашої роботи було вивчити вплив тіаміну і деяких його метаболітів на активність частково очищеного препарату катепсину L.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У досліджах було використано щурів-самців лінії Вістар із масою тіла 180 – 200 г. Піддослідних тварин утримували в стандартних умовах віварію. Усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист тварин, які використовуються для експериментальної наукової мети.

З тканини нирок щурів методами екстракції, діалізу, фракціонування сульфатом амонію, хроматографії на сефадексі G – 50 були отримані препарати частково очищеного катепсину L за допомогою стандартної методики [7, 15], яка була модифікована в нашій лабораторії [6, 14].

Білок визначали за методом Лоури [16]. Активність ферменту вимірювали за методом Чорної [10] в модифікації Вовчук [6]. Основа методу полягає у визначенні кількості продуктів гідролізу білкового субстрату – азоказеїну, які не осідають при додаванні 10 % трихлороцтової кислоти. Оптичну щільність визначали при довжині хвилі 366 нм, на спектрофотометрі СФ – 26.

Питому активність виражали в мкМ тирозину на мг білка.

Для визначення вмісту сульфгідрильних і дисульфідних груп в очищеному ферменті до і після додавання тіолвмісних сполук був використаний метод зворотного амперометричного титрування [5].

Для розрахунку отриманих результатів застосовували методи статистичного аналізу з використанням параметричних критеріїв оцінки розбіжності між вибірками за допомогою програми Microsoft Office Excel 2003.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Для досягнення поставленої мети необхідно було дослідження розбити на декілька етапів.

Для дослідження були взяті тканини нирок, оскільки в нирках, які є органом виділення, катепсинам належить особлива роль, що полягає в деструкції олігопептидів. По-друге, в цьому органі, активність катепсинів висока. І крім того, відомо, що в нирках концентрується достатня кількість вільного тіаміну і його катаболитів [13], що забезпечує їх максимальну взаємодію з катепсинами.

У попередніх роботах в нашій лабораторії було показано, що більшість некоферментних функцій тіаміну пов'язана з вільною його формою і тіохромом [1, 2]. Тому в першій серії досліджень ми вивчили вплив тіаміну і його похідних на активність виділеного ферменту. Для того, щоб з'ясувати питання про можливу участь різних фосфорильованих форм тіаміну в такій регуляції і виключити коферментну функцію були взяті тіамінпірофосфат і бенфотіамін.

В експерименті *in vitro* активність частково очищеного катепсину L визначали в інкубаційній суміші після додавання еквімолярних розчинів тіаміну, його похідних і тіолвмісних сполук. В контрольні проби додавали такі ж об'єми дистильованої води, як і в дослідні проби.

Для співставлення усі дані були перераховані в мкмолі амінокислот, що утворюються в результаті протеолізу, на 1 міліграм білка за хвилину.

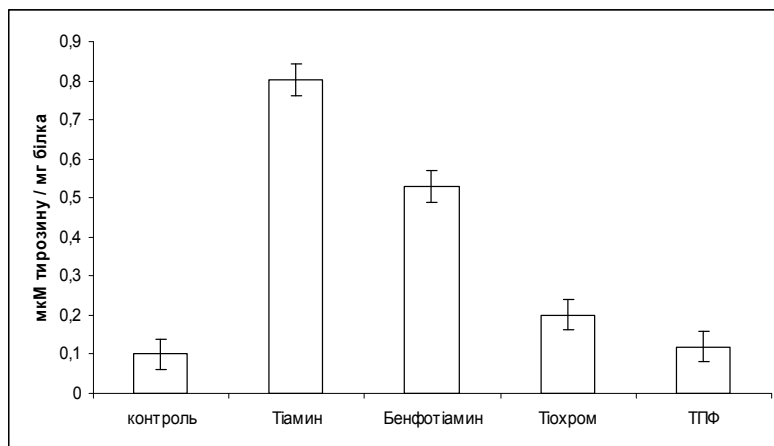


Рис. 1. Вплив тіаміну і його похідних на активність частково очищеного препарату катепсину L (мкМ / мг білка за хвилину),  $n = 10$ .

Дані, які приведені на рисунку 1, свідчать, що всі досліджені метаболіти тіаміну (бенфотіамін, тіохром) і сам тіамін виявляли активуючу дію на катепсин L. ТПФ не мав достовірно значущого активуючого ефекту.

Щоб визначити чи має в цьому випадку місце неспецифічна взаємодія між тіаміном та його похідними з одного боку і сульфгідрильними групами ферменту з іншого, ми вивчили вплив інших SH-вмісних сполук (ліпоевої кислоти, відновленого глутатіону та цистеїну) на активність досліджуваного ферменту.

На Рисунку 2 зазначено, що застосування тіоловмісних сполук призводило до зворотнього ефекту. Усі досліджені сполуки, окрім відновленого глутатіону, інгібували активність ферменту. Відновлений глутатіон не впливав на ресторований показник.

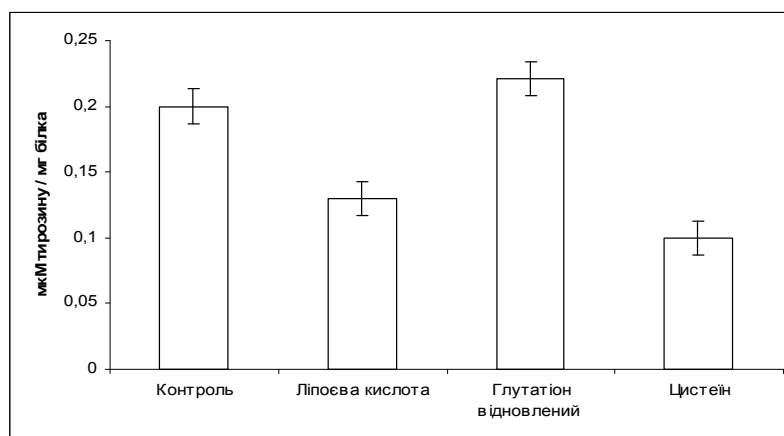


Рис. 2. Вплив тіолових сполук на активність частково очищеного препарату катепсину L (мкМ тирозину / мг білка за хвилину),  $n = 10$ .

Таким чином, взаємодія тіаміну, тіохрому і інших метаболітів тіаміну з катепсином L не може бути віднесено за рахунок тіолдисульфідної взаємодії.

Наступним етапом нашої роботи було дослідження вмісту SH- та S-S- груп в частково очищеному препараті катепсину L після його обробки тіаміном, його метаболітами і тіолвмісними сполуками.

Для з'ясування ролі стану SH- груп в молекулі ферменту при взаємодії з тіаміном і його похідними іншими SH- вмісними сполуками, ми провели серію експериментів, в якій визначили рівень SH- груп у ферменті після його обробки тіаміном і його похідними.

**Таблиця 1.**  
**Вміст SH- і -S-S- груп в частково очищеному препараті катепсину L після його обробки тіаміном та його похідними (мкмоль/мл)**

Експеримент 0,1 мл ферменту + 0,01 мл реагенту			
Реакційна суміш	SH	SS	SH + SS
0,1 мл ферменту	0,0174	0,0626	0,08
0,01 мл тіаміну	0,0057	0,0036	0,0093
Всього реакц. суміш	0,0231	0,0662	0,0893
Інкубація 120 хв. при 37 °С	0,0092	0,0708	0,08
0,1 мл ферменту	0,0174	0,0626	0,08
0,01 мл бенфотіаміну	0,0004	0,0049	0,0053
Всього реакц. суміш	0,0178	0,0675	0,0853
Інкубація 120 хв. при 37 °С	0,0172	0,0418	0,059
0,1 мл ферменту	0,0174	0,0626	0,08
0,01 мл тіохрому	0,0004	0,0056	0,006
Всього реакц. суміш	0,0178	0,0682	0,086
Інкубація 120 хв. при 37 °С	0,0142	0,0458	0,06

Дані, які приведені в Таблиці 1, свідчать, що тіамін і частково тіохром знижували рівень SH- груп у ферменті. Бенфотіамін не мав такого ефекту.

Для з'ясування питання про те, чи є цей ефект специфічним для тіаміну чи він властивий іншим тіолвмісним сполукам, ми досліджували вплив ліпоевої кислоти, відновленого глутатіону і цистеїну на вміст SH- і -S-S- груп у ферменті (таблиця 2).

**Таблиця 2.**  
**Вміст SH- і -S-S- груп в частково очищеному препараті катепсину L після його обробки тіолвмісними сполуками (мкмоль/мл)**

Експеримент 0,1 мл ферменту + 0,01 мл реагенту			
Реакційна суміш	SH	SS	SH + SS
0,1 мл ферменту	0,0174	0,0626	0,08
0,01 мл ліпоєвої кислоти	0,0056	0,0011	0,0067
Всього реакц.суміш	0,023	0,0637	0,0867
Інкубація 120 хв. при 37 °С	0,0148	0,0684	0,0832
0,1 мл ферменту	0,0174	0,0626	0,08
0,01 мл глутатіону	0,136	0,064	0,02
Всього реакц.суміш	0,1534	0,1266	0,28
Інкубація 120 хв. при 37 °С	0,19	1,17	1,36
0,1 мл ферменту	0,0174	0,0626	0,08
0,01 мл цистеїну	0,0667	0	0,0667
Всього реакц.суміш	0,084	0,626	0,1466
Інкубація 120 хв. при 37 °С	0,096	0,0528	0,1488

Наведені в Таблиці 2 дані показують що, ні в одному з випадків не спостерігається зменшення вмісту SH- груп. Рівень SH- груп в усіх випадках різко збільшувався, що свідчить про взаємодію цих сполук з ферментом з відновленням його SH- груп.

Наші дослідження свідчать про те, що присутність тіаміну та його метаболітів призводить до активації ферменту, а тіолвмісні сполуки – до його інгібування. SH-групи досліджуваного фермента при заданих умовах поведуться таким чином: при додавання тіаміну та його метаболітів ми спостерігали зниження кількості вільних SH- груп у ферменті, тоді як додавання тіолвмісних сполук призводило до збільшення кількості цих груп. Це говорить про те, що в останньому випадку відбувалося тільки відновлення -S-S- груп ферменту до SH- груп, тоді як присутність тіаміну та його метаболітів призводить до зниження кількості вільних SH- груп, можливо, за рахунок відкриття тіазолового кільця тіаміну або, відповідно його метаболіту з утворенням змішаного дисульфідіду. Таке приєднання, вирогідно, провокує структурні зміни в молекулі ферменту, внаслідок чого фермент активується.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, можна вважати встановленим, що взаємодія тіаміну і тіохрому з катепсином L відбувається по специфічному тіолдисульфідному механізму, який властивий тільки для цих сполук.

Наші дані свідчать про те, що вільний тіамін та тіохром можуть служити ефекторами для катепсину L шляхом специфічного приєднання до нього по тіолдисульфідному механізму, що призводить до активації ферменту.

## Список літератури

1. Петров С. А. Некоферментные эффекты тиамин и его метаболитов / С. А. Петров // Біомедицина хімія. – 2006. – Т. 52. – С. 335–345.
2. Петров С.А. Регуляция тиамином и его метаболитами процессов образования и обмена аминокислот в организме: автореф. дисс. на соискание учен. степени докт. биол. наук : спец. 03.00.04. «Биохимия» / Петров Сергей Анатольевич ; Институт радиобиологии Академии наук Беларуси. – Минск, 1992. – 32, [1] с., включая обл. : с. 12.
3. Взаємодія тіамінкінази мозку шурів із тіаміном і його похідними / С.Ю. Пилипчук, Ю.М. Пархоменко, З.С. Протасова [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 2. – С. 51–56.
4. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / I. E. Gulyai, A.F. Makarchikov, B. Lakaye [et al.] / Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – V. 60. – P. 1477–1148.
5. Костюшов В. В. Амперотитриметричний імуноаналіз тіолопривних механізмів взаємодії антигена з антитілами / В.В. Костюшов // Одеський медичний журнал. – 1998. – № 6. – С. 11–14.
6. Вовчук І.Л. Активність тканинних катепсин-L-подібних протеїназ у жінок онкопатології тіла матки / І.Л. Вовчук, С.С. Чернадчук // Укр. біохім. журн. – 2004. – № 2. – С. 56–60.
7. Жлоба А.А. Очищення, ідентифікація і властивості цистеїнових катепсинів тканин тварин / А. А. Жлоба // Укр. біохім. журн. – 1986. Т. 58, № 4. – С. 100–111.
8. Руденська Г. Н. Цистеїнові протеїнази мікроорганізмів і вірусів / Г. Н. Руденська, Д. В. Пупов // Біохімія. – 2008. – Т. 73. – С. 3–17.
9. Жанаева С.Я. Прогностическая значимость цистеиновых протеаз лизосом в определении эффективности противоопухолевой терапии / С.Я. Жанаева, А.И. Дьяков, Т.А. Алексеенко // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55. – С. 89–97.
10. Черная В.И. Катепсина L из опухоли мозга человека. Очистка и содержание / В.И. Черная // Укр. біохім. журн. – 1998. – Т. 70, № 5. – С. 97–103.
11. Pfizer J.M. Primed-site Probing of Papain-like Cysteine Proteases / J.M. Pfizer, I. Assfalg-Machleidt, W. Machleidt [et al.] // International Journal of Peptide Research and Therapeutics formerly known as “Letters in Peptide Science”. – 2006. – P. 44–67.
12. Степура А.И. Роль тиольной формы тиамин в обмене оксида азота / А.И. Степура, Т.П. Пилецкая, И.И. Степура // Биохимия. – Т. 70. – 2005. – С. 416–429.
13. Янчий О. Р. Внутриклеточная локализация тиаминсвязывающих белков печени и почек крыс / О. Р. Янчий, Ю.М. Пархоменко, Г.В. Донченко // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 6. – С. 111–114.
14. Пат. № 46633 Україна, МПК (2009), С 12 N 9/50, С 12 N 9/64. Спосіб визначення активності матричної металопротеїнази-2 / Вовчук І.Л. ; заявник та патентодержатель Вовчук І.Л. – № 24. 2009 08087 ; заявл. 31.07.2009 ; опубл. 25.12.2009, Бюл. № 24.
15. Практическое руководство по энзимологии / Под ред. Г. А. Кочетова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. школа, 1980. – 272 с.
16. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosenbrough, A. Z. Fan [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265–275.



Устьянская О.В. Регуляция тиамином и его производными активности катепсина L / О.В. Устьянская, И.И. Бокал, О.В. Шварцова, С.А. Петров // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С.291-297

В статье изучается влияние тиамин и некоторых его метаболитов на активность очищенного препарата катепсина L. Установлено, что свободный тиамин и тиохром могут служить эффекторами для катепсина L путем специфического присоединения к нему по тиолдисульфидному механизму, что приводит к активации фермента.

**Ключевые слова:** тиамин и его метаболиты, серосодержащие соединения, частично очищенный препарат катепсина L.

Ustjansky O.V. Cathepsin L Activity Adjusting by Thiaminum and Its Derivatives / O.V. Ustjansky, I.I. Bokal, O.V. Shvartcova, S.A. Petrov // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 291-297.

In the article the influence of Thiaminum and some its metabolites on the activity of the cleared preparation of cathepsin L are studied. It is determined that free Thiaminum and thiochrome can serve as effectors for the cathepsin L by the specific joibing to it on a thioldisulfide mechanism, that results in activation of enzyme.

**Keywords:** Thiaminum and some its metabolites, sulphurcontained compounds. cleared preparation of cathepsin L.

*Поступила в редакцию 23.05.2011 г.*

**УДК 616-007.7**

## **ДИНАМИКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ СИРОТ В ВОЗРАСТЕ ДО 24 МЕСЯЦЕВ**

**Фокина Ю.О.<sup>1</sup>, Кочухова О.М.<sup>2</sup>, Тимуш И.Я.<sup>3</sup>, Вистман Е.С.<sup>3</sup>, Павленко В.Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*Университет Упсала, Упсала, Швеция*

<sup>3</sup>*Детский дом «Елочка», Симферополь, Украина*

*E-mail: fokina1985@mail.ru*

У детей, воспитывающихся в детском доме, наблюдается задержка физического развития, проявляющаяся в снижении показателей веса, роста и обхвата головы относительно нормативных антропометрических данных. Выявлено, что задержка физического развития детей, воспитывающихся в детском доме, напрямую связана с задержкой показателей физического развития на момент рождения и возрастом их поступления в детский дом. Чем позже дети поступают в детский дом, тем больше они отстают в физическом развитии.

**Ключевые слова:** физическое развитие, вес, рост, обхват головы, детский дом.

### **ВВЕДЕНИЕ**

На сегодняшний день существует много работ, посвященных проблемам, которые наблюдаются у маленьких детей, усыновленных из детских домов. Это многочисленные медицинские проблемы [1, 2], задержки в росте мозга [3] проблемы в когнитивном [3–5] и языковом развитии [4], различные поведенческие отклонения [4, 5]. У детей, воспитывающихся в детских домах и интернатах, выявлены также задержки физического развития. Предполагается, что такие отклонения могут быть связаны с депривацией детско-родительских отношений и условиями воспитания детей в детских домах [6]. В тоже время нет лонгитюдных исследований, описывающих динамику показателей физического развития детей сирот в первые годы жизни и до сих пор неизвестно, как меняется физическое развитие за период пребывания ребенка в детском доме.

В связи с этим целью нашей работы было проведение лонгитюдного исследования для описания динамики физического развития (вес, рост, обхват головы) детей-сирот и определение факторов, влияющих на физическое развитие таких детей.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Данные о физическом развитии были получены на основании анализа медицинских карт детей, воспитывающихся в детском доме «Елочка» г. Симферополь с 2002 по 2009 г. Показатели веса, роста и обхвата головы

анализировали в зависимости от возраста ребенка от рождения до 24 месяцев. Мы отобрали 63 медицинских карты в соответствии со следующими критериями. Эти дети не имели синдрома Дауна, фетального алкогольного синдрома, ВИЧ инфекции, полиомиелита и постоянно находились в детском доме с момента поступления. Среди отобранных детей мы выделили две группы: группа детей с нормальным весом при рождении (НОРВ) – от 2500 г до 4500 г (21 мальчик, 19 девочек) и группа детей с низким весом при рождении (НИЗВ) – от 1170 г до 2450 г (12 мальчиков, 11 девочек).

Данные, полученные из медицинских карт детей, воспитывающихся в детском доме сравнивали со стандартными антропометрическими данными, используемыми в педиатрии [7]. Мы использовали антропометрические таблицы средних и центилей для веса, роста и обхвата головы отдельно для каждого возраста с учетом пола ребенка.

Обработку данных проводили с использованием программы Statistica. Для сравнения показателей физического развития детей двух групп НОРВ и НИЗВ мы использовали t-критерий. Для каждого ребенка в каждом возрасте пола определяли задержку физического развития, используя показатели веса, роста и обхвата головы. При этом вычисляли разницу между нормальными показателями и данными ребенка, воспитывающегося в детском доме. Для определения факторов, которые могут влиять на физическое развитие ребенка, использовали множественный регрессионный анализ. В регрессионной модели выделяли три фактора: пол ребенка, задержка физического развития (рост, вес, обхват головы) на момент рождения и задержка физического развития на момент поступления ребенка в детский дом.

С учетом того, что на физическое развитие ребенка может влиять заболеваемость ребенка, мы подсчитали показатель заболеваемости для каждого ребенка. Этот показатель был подсчитан как общее число заболеваний, требующих медицинского вмешательства, которые наблюдались у ребенка в возрасте до 2 лет. Однако достоверной связи между средней задержкой в показателе веса, роста и обхвата головы и показателем заболеваемости нами выявлено не было.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано на Рисунке 1 показатели веса, роста и обхвата головы у детей, воспитывающихся в детском доме, в среднем были ниже, по сравнению с нормативными антропометрическими данными (рис. 1).

Также были выявлены достоверные различия между двумя группами детей НОРВ и НИЗВ. Так, для показателей роста и веса достоверные изменения наблюдались от рождения до 15 месяцев, тогда как для обхвата головы – на протяжении всего периода наблюдения (рис. 1).

Множественный регрессионный анализ позволил оценить влияние трех факторов (пола, задержек показателей физического развития и возраста при поступлении в детский дом) на показатели физического развития. Результаты такого анализа показали, что из указанных предикторов только задержка физического развития (по показателям роста, веса, обхвата головы), имеющаяся у ребенка на

момент поступления в детский дом является критической для дальнейшего развития ребенка. Только для данного фактора были выявлены достоверные значения – коэффициент регрессии В составлял от  $0,6 \pm 0,2$  до  $0,9 \pm 0,1$ .

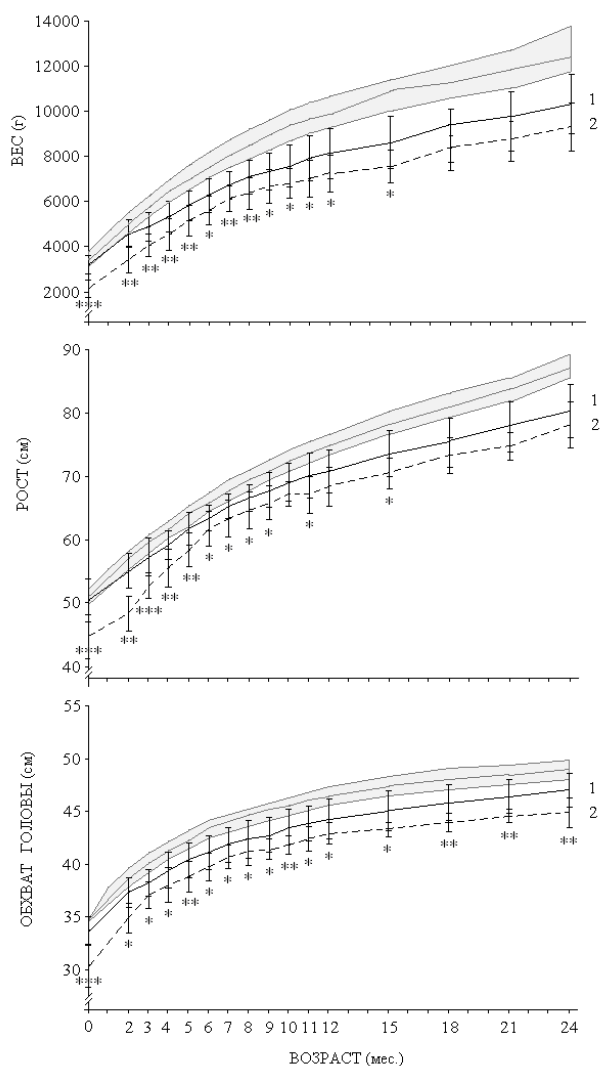


Рис. 1. Динамика физического развития детей-сирот, в первые два года.

1 – группа детей с нормальным весом при рождении; 2- группа детей с низким весом при рождении.

Серым фоном отмечены центили нормативных данных: 25 (нижняя линия), 50 (средняя) и 75 (верхняя) (по данным [7]). Звездочки отмечены достоверные различия между 1 и 2 группами: \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ , \*\*\* –  $p \leq 0,001$ .

Мы предположили, что задержка физического развития, выявленная на момент поступления в детский дом, в свою очередь может быть связана с двумя факторами: задержкой физического развития, которая имеется у ребенка при рождении, и возрастом, в котором ребенок поступает в детский дом (то есть периодом проживания вне детского дома). Мы провели регрессионный анализ по этим параметрам и обнаружили, что эти два предиктора достоверно влияют на задержку физического развития. Для задержки физического развития, которая имеется у ребенка при рождении коэффициент регрессии составил: для веса  $B = 0,5 \pm 0,1$  ( $p \leq 0,001$ ); для роста  $B = 0,7 \pm 0,2$  ( $p \leq 0,01$ ); для обхвата головы  $B = 0,7 \pm 0,2$  ( $p \leq 0,01$ ). Возраст при поступлении достоверно влияет на задержку веса и роста (коэффициент регрессии составил: для веса  $B = 0,3 \pm 0,1$  ( $p \leq 0,05$ ); для роста  $B = 0,3 \pm 0,1$  ( $p \leq 0,01$ )). То есть чем позже ребенок поступал в детский дом, тем больше у него была задержка в данных показателях развития. Для обхвата головы достоверных данных выявлено не было. Результаты регрессионного анализа отражены на Рис. 2.



Рис. 2. Факторы, влияющие на задержку физического развития детей, воспитывающихся в детском доме.

ЗФР – задержка физического развития.

Следующим этапом было проведение корреляционного анализа, чтобы определить, как период нахождения ребенка в детском доме связан с задержкой физического развития. Результаты такого анализа показали, что период нахождения ребенка в детском доме достоверно не влияет на изменение показателей физического развития. Выявлена даже положительная тенденция во влиянии нахождения в детском доме на развитие ребенка. То есть чем дольше период пребывания ребенка в детском доме, тем меньше становится задержка в показателях физического развития.

На сегодняшний день в литературе имеются многочисленные данные, показывающие негативное влияние детского дома на физическое развитие ребенка. Например, Johnson et al. [1] обнаружили, что дети-сироты из Румынии по

физическому развитию за каждые три месяца нахождения в детском доме отстают на 1 месяц по сравнению с детьми из полных семей. Albers, Johnson, Hostetter, Iverson, and Miller [8], проанализировав медицинские карты 56 усыновленных детей из бывшего Советского Союза и Восточной Европы, пришли к выводу, что за каждые пять месяцев, проведенные в детском доме, ребенок отстает на 1 месяц в развитии. В целом в исследованиях подобного характера показано, что чем больше времени ребенок проводит в детском доме, тем больше у него задержка в физическом развитии [9]. Однако во всех исследованиях данные физического развития детей сирот сравниваются с данными физического развития детей из нормальных семей, а не с данными детей, которые воспитываются в асоциальных семьях. Так, в детских домах Украины содержится больше 60% социальных сирот, родители которых не уделяют должного внимания воспитанию детей и зачастую такие дети не получают нормального питания и своевременной медицинской помощи, а условия их содержания не соответствуют никаким нормам. В тоже время известно, этиология появления задержек в физическом развитии является многофакторной и включает в себя три основные причины: неудовлетворительное питание, высокая заболеваемость ребенка, жестокое обращение и пренебрежение в семье. Все это может привести к нарушениям обмена веществ, связанным с всасыванием и использованием питательных веществ [10, 11].

В нашем исследовании впервые предпринята попытка оценить факторы, которые могут влиять на задержку физического развития, которая имеется у детей, воспитывающихся в детских домах. Так, нами впервые показано, что такая задержка напрямую связана с задержкой при поступлении. То есть чем позже ребенок поступает в детский дом и дольше находится в асоциальных условиях, тем больше у него задержка физического развития.

### **ВЫВОДЫ**

1. У детей, воспитывающихся в детском доме, наблюдается задержка физического развития, проявляющаяся в снижении показателей веса, роста и обхвата головы относительно нормативных антропометрических данных.
2. Выявлено, что задержка физического развития детей, воспитывающихся в детском доме, напрямую связана с задержкой показателей физического развития на момент рождения и возрастом их поступления в детский дом.
3. Чем позже дети поступают в детский дом, тем больше они отстают в физическом развитии. То есть ключевым фактором, влияющим на дальнейшее физическое развитие ребенка, является время, проведенное в асоциальных условиях неблагополучной семьи. В тоже время адекватный уход за детьми в детском доме «Елочка» благоприятно влияет на физическое развитие детей.

### **Список литературы**

1. Johnson D.E. Medical and developmental sequelae of early childhood institutionalization in Eastern European adoptees / D. E. Johnson // Minnesota Symposia on Child Psychology. – 2000. – № 31. – P. 113-162.

2. Frank D.A., Klass P.E., Earls F. Infants and young children in orphanages: One view from pediatrics and child psychiatry // *Pediatrics*. – 1996. – V. 97. – P. 569-577.
3. Juffer F., Van Ijzendoorn M.H. Behavior problems and mental health referrals of international adoptees: A meta-analysis / F. Juffer, M. H. Van Ijzendoorn // *J. American Medical Association*. – 2005. – V. 293 (20). – P. 2501–2515.
4. Smyke A.T. Attachment disturbances in young children. I: The continuum of caretaking casualty / A. T. Smyke, A. Dumitrescu, C. H. Zeanah // *J. American Academy of Children and Adolescent Psychiatry*. – 2002. – V. 41. – P. 972–982.
5. Zeanah C.H. Attachment in institutionalized and non-institutionalized Romanian children / C. H. Zeanah, A. T. Smyke, S.F.M. Koga [et al.] // *Children development*. – 2005. – V. 76. – P. 1015–1028.
6. Karel S.R., Freeman B. J. Analysis of environmental deprivation: Cognitive and social development in Romanian orphans / S. R. Karel, B. J. Freeman // *J. of Child Psychology and Psychiatry*. – 1994. – V. 35 (4). – P. 769-781.
7. Справочник педиатра / Ред. В. О. Быков. – Ставрополь: Изд-во СтГМА, 2004 г. – 510 с.
8. Albers L. H. Health of children adopted from the former Soviet Union and Eastern Europe. Comparison with preadoptive medical records / L. H. Albers, D.E. Johnson, M. K. Iverson [et al.] // *J. American medical association*. – 1997. – V. 278. – P. 922–924.
9. Ijzendoorn Van M. H. Plasticity of growth in height, weight, and head circumference: meta-analytic evidence of massive catch-up after international adoption / Van M. H. Ijzendoorn, F. Juffer // *J. Dev Behav Pediatr*. – 2007. – V. 28(4). – P. 334–43.
10. Blizzard R. M. Psychosocial short stature: a syndrome with many variables / R.M. Blizzard , A. Bulatovic // *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. – 1992. – V. 6(3). – P. 687–712.
11. Grantham-McGregor S. M. Effect of health and nutrition on cognitive and behavioral development in children in the first three years of life. Part 2. Infection and micronutrient deficiencies: iodine, iron and zinc / S. M. Grantham-McGregor, L.C. Fernald, K.Sethuraman // *Food and nutrition Bulletin*. – 1999. – V. 20. – P. 76-99.

**Фокіна Ю.О. Динаміка фізичного розвитку дітей сиріт віком до 24 місяців / Ю.О. Фокіна, О.М. Кочухова, І.Я. Тімуш, Є.С. Вістман, В.Б. Павленко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 298-303.**

У дітей, які виховуються у дитячому будинку, спостерігається затримка фізичного розвитку, що виявляється у зниженні показників ваги, росту і обхвату голови щодо нормативних антропометричних даних. Виявлено, що затримка фізичного розвитку у дітей, які виховуються у дитячому будинку, безпосередньо пов'язана з затримкою показників фізичного розвитку на момент народження і віком їх надходження до дитячого будинку. Чим пізніше діти вступають до дитячого будинку, тим більше вони відстають у фізичному розвитку.

**Ключові слова:** фізичний розвиток, вага, зріст, обхват голови, дитячий будинок.

**Fokina Iu.O. The dynamics of orphans physical development under 24 months of age / Iu. O. Fokina, O.M. Kochuhova, I.Ya. Timush, E.S. Vistman, V.B. Pavlenko // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 298-303.**

Institution-reared children have physical growth delays (weight, height and head circumference) comparatively with normative anthropometric data. Physical growth delay of institution-reared children directly relates with birth physical growth delay and child's age when he/she entered at the institution. The later children enter at the institution, the more delay they have.

**Keywords:** physical development, weight, height and head circumference, children's home.

*Поступила в редакцію 12.03.2011 г.*

**УДК 612.014.46**

## **ЗАВИСИМОСТЬ ВЛИЯНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ СОЛЕЙ ОТ СОСТОЯНИЯ КАЛЬЦИЕВОЙ СИСТЕМЫ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ**

*Чертаев И.В., Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И., Катюшина О.В., Гамма Т.В.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: 5612178@ukr.net*

В статье приведены результаты исследований, в которых предпринята попытка выяснить особенности механизмов нейротропных эффектов ацетилсалициловой кислоты, ацетилсалицилатов кобальта и цинка от состояния кальциевой системы нейронов улитки. В экспериментах с блокадой входящего тока кальция хлоридом кадмия и подавлением высвобождения кальция из внутриклеточного депо хлоридом бария выявлено отсутствие участия ионов кальция в исследуемых эффектах.

**Ключевые слова:** нейроны моллюска, ацетилсалициловая кислота, ацетилсалицилаты, ионы кальция, блокаторы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Ацетилсалициловая кислота (АК) и многие её производные уже более 100 лет применяются в медицине как жаропонижающие, противовоспалительные, болеутоляющие и противоревматические средства [1–4]. По данным литературы известно, что АК оказывает также угнетающее влияние на активность вазомоторных центров и кортикальные вызванные потенциалы у человека [5, 6]. В раннее проведённых нами исследованиях впервые выявлено, что АК, ацетилсалицилаты кобальта (АСК) и цинка (АСЦ), как и близкие к ним по структуре соединения – салициловая кислота, салицилаты кобальта и цинка – проявляют достаточно выраженные нейротропное и психотропное действия [7–11]. Мы установили, что эффекты этих химических агентов реализуются в нервных клетках посредством изменения концентрации циклических нуклеотидов (цАМФ, цГМФ) [7, 9, 10], являющихся вторичными посредниками при передаче сигнала внутрь клетки. Общеизвестно, что ионы кальция также являются вторичным мессенджером в нейронах и выполняют ряд важных биологических функций [12, 13, 16–18]. Согласно современным представлениям, они могут влиять на возбудимость нейронов, поскольку участвуют в инициации потенциалов действия, регулируют ритмическую активность нервных клеток и проницаемость клеточных мембран, опосредуют выброс нейротрансмиттеров из пресинаптических мембран [14, 16–18]. Многие авторы считают, что источником кальция в нейронах являются его поступление через каналы плазмалеммы (входящий кальциевый ток) и высвобождение из внутриклеточного депо при входе в нервные клетки ионов



натрия, кальция или под действием инозитолтрифосфата [12–17]. Из выше сказанного следует, что ионы кальция могут являться посредниками в эффектах биологически активных веществ на нейроны моллюсков. Ранее мы выяснили, что нейротропные эффекты салициловой кислоты, салицилатов кобальта и цинка не зависят от входящего кальциевого тока и выделения внутриклеточного кальция из депо [10, 18]. А относительно участия ионов кальция в нейротропных механизмах воздействия АК, АСК и АСЦ какие-либо сведения в литературе отсутствуют.

Поэтому, в настоящей работе мы попытались выяснить, играет ли кальциевая система (входящий ток кальция и высвобождение этого иона из внутриклеточного депо) нервной клетки в нейротропных эффектах АК и её солей – АСК и АСЦ. Для этого в серии экспериментов мы использовали блокатор входящего кальциевого тока хлорид кадмия [9, 16, 23–25]. Но поскольку такая блокада может компенсироваться за счет выделения ионов кальция из внутриклеточного депо, в другой серии аналогичных экспериментов мы применяли вместо хлорида кадмия хлорид бария. Последний, как известно, не только блокирует входящий ток кальция, но и его выделение из внутриклеточного депо, а также выходящий кальций-зависимый калиевый ток [17, 22, 23].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Из тела улитки *Helix albescens* Rossm. извлекали окологлоточное нервное кольцо и фиксировали его вольфрамовыми иглами в экспериментальной камере объёмом 1 мл. Наружные соединительнотканые оболочки ганглиев удаляли механическим путём, без применения ферментативной обработки, так как фермент изменяет нативное состояние исследуемых нервных клеток [14]. Комплекс ганглиев моллюска постоянно омывался протоком раствора Рингера для холоднокровных следующего состава (в миллимолях на 1 литр): NaCl – 100, KCl – 4, CaCl<sub>2</sub> – 10, MgCl<sub>2</sub> – 4, трис-HCl – 10 (pH 7,5).

Регистрация электрических потенциалов нейронов и измерение их параметров проводились при температуре 18 – 21<sup>0</sup> С с помощью внутриклеточного отведения [13]. Биопотенциалы усиливали с помощью установки УФУ-БКН (полоса пропускания 0-10 кГц) и через аналого-цифровой преобразователь передавали на компьютер IBM PC. Запись потенциалов каждого нейрона выполняли с помощью компьютерной программы «Action Potential» [20] по схеме: фон (1 мин.) → экспозиция раствора тестируемого вещества (4 мин.) → экспозиция сочетанного раствора того же вещества с блокатором (4 мин.) → отмывание раствором Рингера (до 20 мин.). Применяли заполненные 2.5 М раствором KCl стеклянные микроэлектроды с сопротивлением 10–30 МОм. С помощью метода фиксации концентрации, который позволял за 20–50 мс сменить внеклеточный раствор, непосредственно на мембрану нейронов однократно апплицировали один из следующих растворов: АК, АСК, АСЦ, АК+CdCl<sub>2</sub>, АСК+CdCl<sub>2</sub>, АСЦ+CdCl<sub>2</sub>, АК+BaCl<sub>2</sub>, АСК+BaCl<sub>2</sub>, АСЦ+BaCl<sub>2</sub> [19]. Растворы исследуемых веществ разводили раствором Рингера до концентраций 0,5\*10<sup>-3</sup> М и 0,5\*10<sup>-4</sup> М, при которых эффекты АК, АСК и АСЦ были наиболее выражены [7]. В работе использовали АК фирмы «Merck» (Германия), и АСК, АСЦ, CdCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub> которые были

синтезированы на кафедре неорганической химии Таврического национального университета им. В.И. Вернадского (химическая чистота этих соединений по данным элементного анализа составляла не менее 95%). Следует отметить, что АСК и АСЦ являются устойчивыми комплексными соединениями, константы диссоциации этих солей очень малы, и это позволяет исключить взаимодействие ионов  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  с мембранными каналами и компонентами растворов в условиях эксперимента [29].

Аналізу были подвергнуты показатели мембранного потенциала (МП), частота генерации импульсов (ЧГИ), кинетика суммарных входящих и выходящих токов неидентифицированных 55 нейронов висцерального (ВГ) и 21 – правого париетального ганглиев (ППаГ). Для оценки достоверности результатов использовали критерий Вилкоксона. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  ошибка среднего. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изолированном нанесении АК на нейроны ВГ и ППаГ, она действовала угнетающе, а эффекты АСК и АСЦ были модулирующими. Поскольку не обнаружено существенных различий в эффектах, этих веществ на импульсную активность нейронов ВГ и ППаГ, в дальнейшем мы приводим просуммированные данные и не акцентируем внимание на принадлежность их к тому или иному ганглию. Следует отметить, что была выявлена зависимость выраженности эффектов АК, АСК и АСЦ от их концентрации в растворе (рис. 1, 2) После отмывания у всех исследованных нейронов полностью восстанавливались исходные показатели электрических параметров, что свидетельствует об отсутствии необратимых изменений функционального состояния нейронов под влиянием АК, АСК, АСЦ и  $\text{CdCl}_2$  в концентрациях  $0,5 \cdot 10^{-4}$  и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М.

В частности,  $0,5 \cdot 10^{-4}$  М АК вызывала у нейронов уменьшение ЧГИ (на  $21,2 \pm 8,7$  %) ( $p \leq 0,05$ ). Механизм такого эффекта заключался в снижении кинетики суммарных входящих (на  $8,2 \pm 2,9$  %) и увеличении выходящих ионных токов (на  $29,2 \pm 11,4$  %). При концентрации АК  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М (рис. 1 Б) у нейронов наблюдались: снижение ЧГИ (на  $36,5 \pm 12,9$  %) и уменьшение МП (на  $24,8 \pm 4,2$  %; т.е. происходила гиперполяризация мембраны), значения суммарных входящих ионных токов снизились от фонового уровня до  $88,2 \pm 14,2$  %, выходящих – повысились до  $159,1 \pm 13,8$  %.

После замены индивидуальных  $0,5 \cdot 10^{-4}$  и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М растворов АК на соответствующие  $0,5 \cdot 10^{-4}$  и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М растворы АК+ $\text{CdCl}_2$  существенных изменений в активности нейронов не наступало, поскольку достоверных изменений ЧГИ, входящих и выходящих суммарных ионных токов и МП не обнаружено (рис. 1 А, Б). Так как блокада входящего кальциевого тока хлоридом кадмия не приводит к существенным изменениям эффектов АК, внеклеточный кальций, по-видимому, не принимает участия в действии этого вещества на нейроны улитки.

## ЗАВИСИМОСТЬ ВЛИЯНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ...

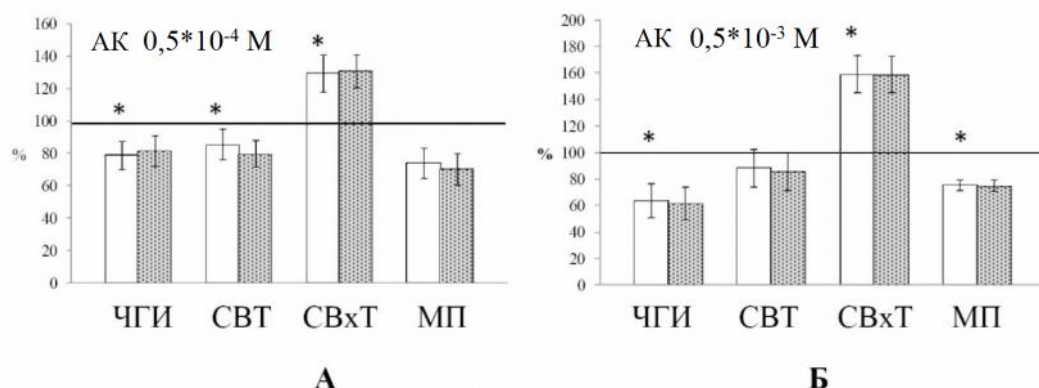


Рис. 1. Эффекты  $0,5 \cdot 10^{-4}$  М (А) и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М (Б) растворов АСК(□) и АСК+ $\text{CdCl}_2$  (▨) на функциональное состояние нейронов (усреднённые данные в %, за 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов).

Здесь и далее: ЧГИ – частота генерации импульсов; СВТ – суммарные входящие токи; СВхТ – суммарные выходящие токи; МП – мембранный потенциал; \* – достоверное изменение показателя по сравнению с фоновым значением,  $p < 0,05$ ; \*\* – то же,  $p < 0,01$ .

Анализ суммарных входящих и выходящих токов показал, что снижение ЧГИ, сопровождающееся следовой гиперполяризацией, при воздействии АСК, обусловлено уменьшением суммарных входящих ионных токов и возрастанием суммарных выходящих (рис 1 А, Б). Таким образом, в соответствии с общепринятыми взглядами можно предположить, что под воздействием АСК происходит нарушение функционирования каналов выходящего калиевого тока и (или) входящего хлорного тока, которое является причиной наблюдаемой гиперполяризации мембраны. Это согласуется с результатами исследований других авторов на нейронах апплизии [19], которые показали, что усиление ионных токов  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  способно вызывать гиперполяризацию мембраны примерно на 35–40 мВ.

В отличие от АСК, эффекты экспозиции  $0,5 \cdot 10^{-4}$  М и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М растворов АСК и АСЦ заключались в увеличении ЧГИ. Так при  $0,5 \cdot 10^{-4}$  М ЧГИ исследованных нейронов повысилась почти в 2 раза (на  $95 \pm 13,1$  % и  $90,0 \pm 12,2$  % соответственно) за счёт значительного увеличения кинетики суммарных входящих токов и снижения выходящих токов. При этом снижался МП по сравнению с фоном (рис. 2 А, Б).

$0,5 \cdot 10^{-3}$  М растворы АСК, АСЦ вызывали увеличение ЧГИ нейронов на  $64,7 \pm 15,2$  % и  $61,2 \pm 14,2$  % соответственно. Это естественно сопровождалось возрастанием кинетики суммарных входящих ионных токов и уменьшением суммарных выходящих и незначительными изменениями МП (рис. 2 В, Г). Следует отметить, что при воздействии индивидуальных растворов АСК и АСЦ в концентрации  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М некоторые нейроны с одиночным распределением фоновых разрядов переходили на генерацию пачек ПД ( $n = 6$ ). Интересным оказался менее выраженный эффект большей концентрации растворов АСК и АСЦ (рис. 2).

Мы полагаем, как и другие авторы [1, 3, 4], что при более высокой концентрации этих солей повышается синтез циклических нуклеотидов. А это, как известно [28], по принципу обратной связи приводит к снижению сродства клеточных рецепторов к вышеупомянутым вторичным посредникам.

После замены окружающих ганглии  $0,5 \cdot 10^{-4}$  и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М растворов АСК на АСК+ $\text{CdCl}_2$  и АСЦ на АСЦ+ $\text{CdCl}_2$  достоверно значимых изменений ЧГИ, уровня МП, кинетики суммарных входящих и выходящих токов по сравнению с отдельно взятыми растворами этих солей, как видно из рис. 2, не зарегистрировано.

Таким образом, применение блокатора хлорида кадмия, показало, что эффекты АК, АСК и АСЦ при инактивации входящего кальциевого тока практически не изменяются. Следовательно, можно считать, что нейротропные эффекты этих соединений не связаны с трансмембранным кальциевым током.

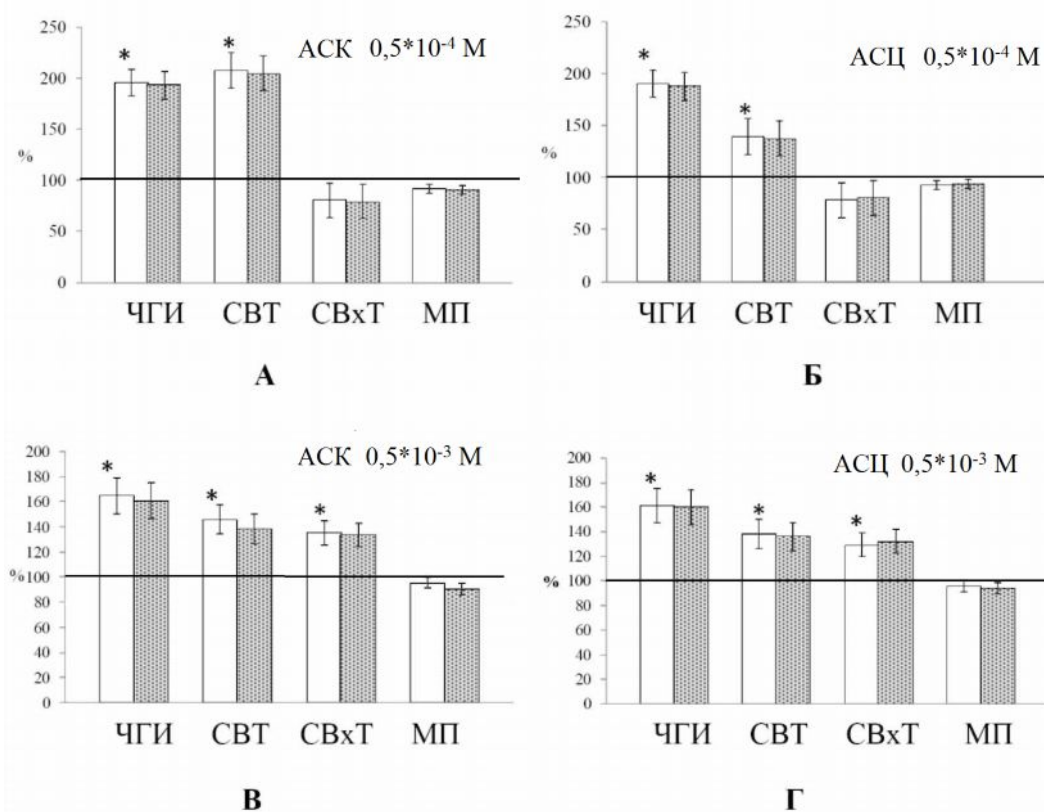


Рис. 2. Эффекты  $0,5 \cdot 10^{-4}$  и  $0,5 \cdot 10^{-3}$  М растворов АСК, АСЦ (□) и АСК+ $\text{CdCl}_2$ , АСЦ+ $\text{CdCl}_2$  (▨) на функциональное состояние нейронов (усреднённые данные в %, за 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов).

Теперь предстояло выяснить, влияет ли на эффекты АК, АСК и АСЦ выделение кальция из внутриклеточного депо. Для этого, как мы уже сказали выше, мы

## ЗАВИСИМОСТЬ ВЛИЯНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ...

провели серию аналогичных экспериментов с хлоридом бария. Результаты этих исследований для АК приведены на Рис. 3, а для АСК и АСЦ на рис. 4.

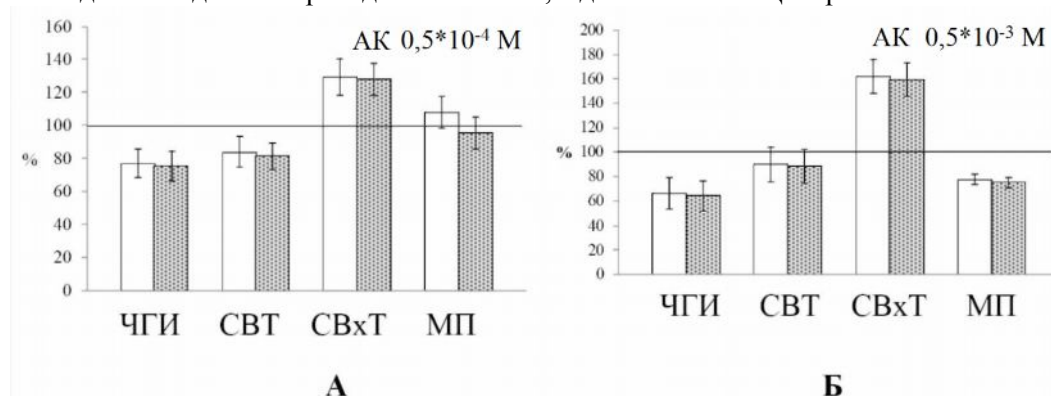


Рис. 3. Эффекты 0,5 \* 10<sup>-4</sup> М (А) и 0,5 \* 10<sup>-3</sup> М (Б) растворов АК (□) и АК+ВаСl<sub>2</sub> (▨) на функциональное состояние нейронов (усреднённые данные в %, за 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов).

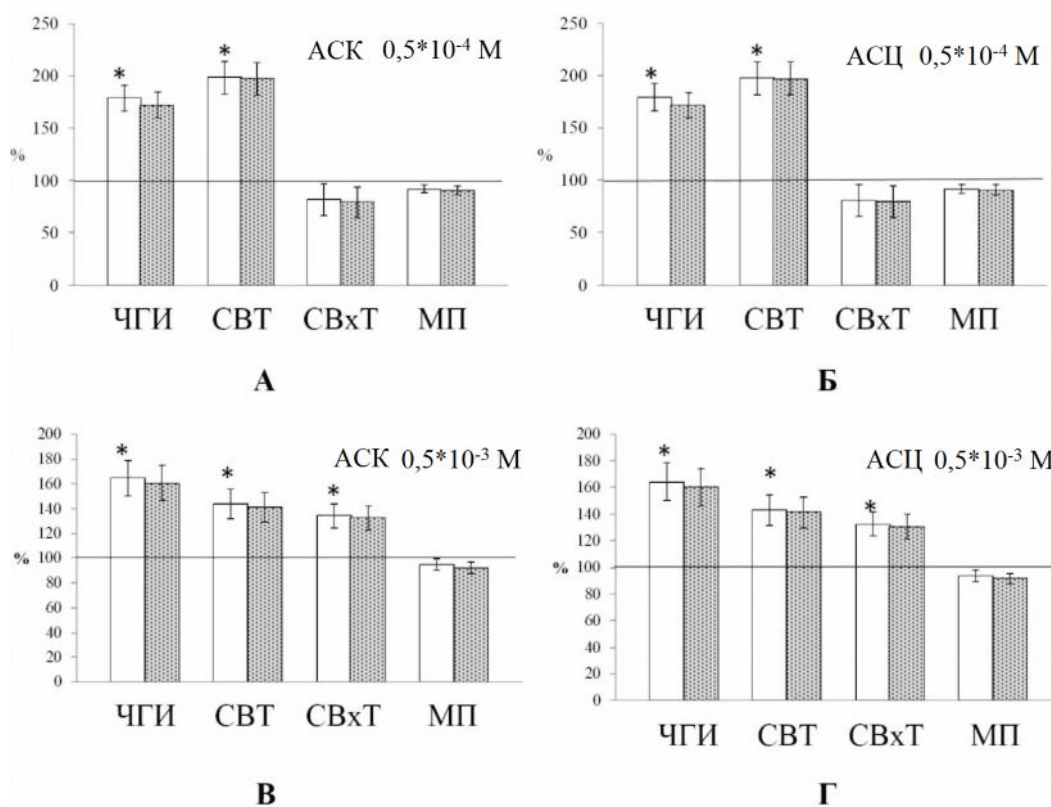


Рис. 4. Эффекты 0,5 \* 10<sup>-4</sup> и 0,5 \* 10<sup>-3</sup> М растворов АСК, АСЦ (□) и АСК+ВаСl<sub>2</sub>, АСЦ+ВаСl<sub>2</sub> (▨) на функциональное состояние нейронов (усреднённые данные в %, за 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов).

за 100 % принят фоновый уровень соответствующих показателей активности нейронов).

Из Рис. 3 и 4 видно, что АК, АСК и АСЦ действовали на нейроны подобно выше рассмотренным случаям, а изменений нейротропных эффектов этих веществ после применения  $\text{BaCl}_2$  по сравнению с их индивидуальными растворами не было обнаружено. Лишь в одном случае, при замене окружающего ганглий  $0,5 \cdot 10^{-4}$  М раствора АК на соответствующий раствор АК+ $\text{BaCl}_2$ , наблюдалось снижение уровня МП на  $12,4 \pm 9,9\%$ . Это согласуется со сведениями литературы, указывающими на то, что  $\text{BaCl}_2$  может вызывать снижение МП и амплитуды ПД [16, 17].

Из анализа результатов настоящего исследования следует, что ионы кальция, которые поступают в нервные клетки как из внешней среды (осуществляется через каналы входящего тока), так и из внутренней среды (за счёт выделения из внутриклеточного депо) не участвуют в нейротропных эффектах ацетилсалициловой кислоты и её солей – АСК и АСЦ. Однако, возможно, что уменьшение концентрации кальция в цитоплазме нейронов компенсируется иными механизмами, не связанными с применяемыми блокаторами.

Один из таких механизмов может реализовываться за счёт работы натрий-кальциевых обменников, зависящих от концентрации ионов натрия по обе стороны мембраны. При деполяризации мембраны, благодаря поступлению ионов  $\text{Na}^+$  внутрь клетки, натрий-кальциевые обменники работают в режиме обратного цикла, способствуя выводу ионов натрия и накоплению  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке [12, 26].

Известно также, что в плазматической мембране сомы нейронов моллюсков содержатся L, N и T кальциевые каналы с преобладанием N каналов, а T каналы встречаются редко [26, 27]. Поскольку ионы кадмия и бария эффективно блокируют потенциалзависимые L и N каналы входящего кальциевого тока, не оказывая влияния на T каналы [16, 26], не исключено, что недостаток ионов кальция частично компенсируется за счёт поступления через T-каналы.

Ещё один возможный механизм компенсации снижения блокаторами –  $\text{CdCl}_2$  и  $\text{BaCl}_2$  – содержания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме нейронов может происходить за счёт конкурентного связывания циклических нуклеотидов, на синтез которых влияют АК и её соли [7, 9, 10], и применяемых блокаторов с рецепторами SMOС  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, поскольку известно, что сопряжение этих каналов с рецепторами происходит за счёт вторичных посредников, в том числе цАМФ и цГМФ [28].

## **ВЫВОД**

На нейронах висцерального и правого париетального ганглиев улитки показано, что нейротропные эффекты ацетилсалициловой кислоты и её солей – ацетилсалицилата кобальта и ацетилсалицилата цинка – не зависят от концентрации ионов кальция, поступающих в цитоплазму нейронов за счёт входящего кальциевого тока и высвобождения из внутриклеточного депо. Возможно, что поступление кальция в цитоплазму компенсируется с помощью других механизмов, на которые применяемые блокаторы не оказывают влияния.

Список литературы

1. Машковский М.Д. Ацетилсалициловая кислота в ряду современных лекарственных средств / М.Д. Машковский // Хим.-фарм. журн. – 1994. – Т. 28, №2. – С. 4-8.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2 т. / М.Д. Машковский. – М.: Издательство Новая Волна, 2002. – Т. 1: Лекарственные средства. – 2002. – 540 с.
3. Налётов С.В. Клиническая фармакология: в 2 т. / С.В. Налётов. – Донецк: Донбасс – 1998. – Т. 2: Клиническая фармакология. – 1998. – 224 с.
4. В.Г. Кукес, Клиническая фармакология / В.Г. Кукес. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 528 с.
5. Дейл М.М. Руководство по иммунофармакологии / М.М. Дейл, Дж.К. Формен / М.: Медицина, 1998. – 332 с.
6. Мелентьева Г.А. Фармацевтическая химия / Г.А. Мелентьева, Л.А. Антонова – М.: Медицина, 1993. – 576 с.
7. Особенности контроля пейсмекерного потенциала нейронов улитки и влияние на него химических веществ / Д.Р. Хусаинов, И.И. Коренюк, О.В. Катюшина [и др.] // научные труды II съезда физиологов СНГ, Кишинэу (Кишинёв), Молдова, 29-31 октября 2008, С. 74.
8. Яковчук Т.В. Влияние ацетилсалициловой кислоты, ацетилсалицилатов кобальта и цинка на поведенческие реакции крыс / Т.В. Яковчук, О.В. Катюшина, Д.Р. Хусаинов [и др.] // Учёные записки ТНУ, серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23. – № 2. – С. 193 – 199.
9. Коренюк И.И. Влияние салициловой кислоты и её солей на электрическую активность нейронов виноградной улитки / И.И. Коренюк, Д.Р. Хусаинов, В.Ф. Шульгин // *Neurophysiology* / *Neurophysiology*. – 2005. – Т. 37, № 2. – С. 142-150.
10. Коренюк И.И. Салицилаты кобальта и цинка как функциональные аналоги инициирующего фактора в нервной системе моллюска / И.И. Коренюк, Д.Р. Хусаинов, В.Ф. Шульгин // *Нейрофизиология* / *Neurophysiology*. – 2006. – Т. 38, № 1. – С. 11-18.
11. Яковчук Т.В. Психотропная активность солей салициловой кислоты в условиях поведенческих тестов у крыс/ Т.В. Яковчук, О.В. Катюшина, Д.Р. Хусаинов [и др.] // Учёные записки ТНУ, серия «Биология, химия». – 2009. – Т. 22. – №1. – С. 25-31.
12. Berridge M.G. Neuronal calcium signaling / M.G. Berridge // *Neuron*. – 1998. – Vol. 21, №1. – P. 13 – 18.
13. Костюк П.Г. Кальций и клеточная возбудимость / П.Г. Костюк – М.: Наука, 1986. – 256 с.
14. Магура И.С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны / И.С. Магура – К.: Наук. думка, 1981. – 208 с.
15. Механизмы изменения концентрации ионов кальция в цитоплазме нейронов виноградной улитки с участием внутриклеточных кальциевых депо / П.Г. Костюк, А.В. Тепикин, П.В. Белан [и др.] // *Биол. мембраны*. – 1987. – Т. 4, № 9. – С. 932 – 936.
16. Зефиоров А.Л. Ионные каналы нервного окончания / А.Л. Зефиоров, Г.Ф. Ситдикова // *Успехи физиол. наук*. – 2002. – Т. 33, № 4. – С. 3-33.
17. Meir. A. Ion channels in presynaptic nerve terminals and control of transmitter release / A. Meir, S. Ginsburg, A. Butkevich and oth. // *Physiol. Rev.* – 1999. – V. 79, № 3. – P. 1019 – 1088.
18. Черетаев И.В. Зависимость влияния салициловой кислоты и её солей на нейроны улитки от состояния кальциевой системы / Черетаев И.В., Д.Р. Хусаинов, И.И. Коренюк и [др.] // Учёные записки ТНУ, серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 1, № 23. – С. 113-118.
19. Kramer R.H. Calcium-induced inactivation of calcium current causes the interburst hyperpolarization of *Aplysia* bursting neurons / R.H. Kramer, R.S. Zucker // *J. Physiol.* 1985. – Vol. 362, № 2. – P. 131-160.
20. А.с. № 1164229 Україна. Комп'ютерна програма для реєстрації, обробки і автоматизованого аналізу біоелектричних сигналів / А.А. Замотайлов, І.І. Коренюк (Україна) № 1164229; опубл. 29.11.2004 р.
21. Kato Chemical characteristics of the L-glutamate receptor on the *Onchidium* neuron / Kato, Y. Oomura, J. Maruhashi [et al.] // *J. Neurosci.* – 1983. – Vol. 3, №3. – P. 549-556.
22. Усачёв Ю.М. Действие ионов стронция и бария на системы связывания и транспорта кальция в нервных клетках / Ю.М. Усачёв, С.Л. Миронов // *Нейрофизиология* / *Neurophysiology* – 1989. – Т. 21, № 6. – С. 820-826.

23. Кононенко Н.И. Влияние ионов кадмия на пачечную электрическую активность идентифицированного нейрона виноградной улитки / Н.И. Кононенко, О.Н. Осипенко // Нейрофизиология / Neurophysiology – 1983. – Т. 15, № 3. – С. 2047-2054.
24. Костюченко О.В. Эндогенная пейсмекерная активность изолированных нейронов моллюска / О.В. Костюченко, И.И. Коренюк // Учёные записки ТНУ, серия «Биология, химия». – 2000. – Т. 2, № 13. – С. 34-41.
25. Кононенко Н.И. Механизмы генерации ритмоводящей активности в идентифицированных нейронах виноградной улитки / Н.И. Кононенко, О.В. Костюченко // Нейрофизиология / Neurophysiology – 2001. – Т. 33, №1. С. 46 – 54.
26. Мельников К.Н. Разнообразие и свойства кальциевых каналов возбудимых мембран / К.Н. Мельников // Психофармакол. биол. наркология. – 2006. – Т. 6, № 1-2. С. 1139-1155.
27. Вислобоков А.И. Современные представления о воздействии фармакологических веществ на ионные каналы / А.И. Вислобоков // Психофармакол. биол. наркология. – 2007. – Т. 7, № 3-4. С. 2121-2130.
28. Зинченко В.П. Внутриклеточная сигнализация / В.П. Зинченко, Л.П. Долгачёва / Пушино: Аналит. микроскопия, 2003. – 84 с.
29. Jabalpurwala K.E. Metal ligand stability constants of some ortho-substituted phenols / K.E. Jabalpurwala, K.A. Venkatachalam, M.B. Kabadi // J. Inorg. Nucl. Chem. – 1964. – Vol. 26, № 6, P. 1027-1043.

**Черетасев И.В. Залежність впливу ацетилсаліцилової кислоти та її солей від стану кальцієвої системи нейронів равлика / І.В. Черетасев, Д.Р. Хусаїнов, І.І. Коренюк, О.В. Катюшина, Т.В. Гамма // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 304-312.**

У статті приведені результати досліджень нейротропних ефектів ацетилсаліцилової кислоти та ацетилсаліцилатів кобальту й цинку та зроблена спроба з'ясувати їх механізми від стану кальцієвої системи нейронів равлика. В експериментах з хлоридами кадмію та барію показано, що нейротропні ефекти ацетилсаліцилової кислоти та її солей не залежать від іонів кальцію, що поступають в цитоплазму нейронів равлика за рахунок вхідного кальцієвого струму та вивільнення з внутрішньоклітинного депо.

**Ключові слова:** нейрони моллюска, ацетилсаліцилова кислота, ацетилсаліцилати, іони кальцію, блокатори.

**Cheretayev I.V. Influence salicylic acid and their salts on impulsive activity neurons of snail at the blockage a calcium system / I.V. Cheretayev, D.R. Husainov, I.I. Korenjuk, O.V. Katjushina, T.V. Gamma // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 304-312.**

The article is about results of researches of neurotropic effects of acetylsalicylic acid and acetylsalicylates cobalt and zinc It was made attempt to find their mechanisms from a state of calcium system snail`s neurons. On experiments with blockade of an entering calcium current by cadmium chloride and with the blockade of an entering calcium current and allocation of calcium from intracellular depot of barium chloride it is shown that extracellular and intracellular ions of calcium do not participate in neurotropic effects of acetylsalicylic acid and its salts.

**Keywords:** neurons of mollusc, acetylsalicylic acid, acetylsalicylates, calcium ions, blockers.

*Поступила в редакцію 12.05.2011 г.*



УДК 582.675.1.086.83.:547.91

## КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ *FATSHEDERA LIZEI* – ПРОДУЦЕНТЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ

Чмелева С.И., Брановицкая Т.Ю., Панов Д.А., Омельченко А.В., Бугара И.А.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: cmelevasiv@ukr.net

Исследованы особенности индукции каллусогенеза в культуре вегетативных органов *Fatshedera lizei*. Подобранны модификации питательных сред Мурасиге и Скуга для каллусогенеза. Пассируемый каллус отличался высоким уровнем морфологической гетерогенности. Получены экспериментальные доказательства о присутствии в каллусных культурах различных фракций тритерпеновых гликозидов, аналогичных интактному растению.

**Ключевые слова:** *Fatshedera lizei*, каллусная культура, тритерпеновые гликозиды.

### ВВЕДЕНИЕ

Возможности и перспективы использования культивируемых клеток растений для получения биологически активных веществ уже давно привлекали исследователей в области биотехнологии. В последние годы в связи с ограниченностью природного лекарственного сырья данное направление является актуальным и перспективным [1, 2]. Разработка таких технологий заключается в исследованиях закономерностей каллусогенеза и накоплении вторичных метаболитов в клеточных культурах. Среди веществ вторичного метаболизма значительный интерес представляют различные гликозиды, проявляющие широкий спектр фармакологического действия.

Представители семейства аралиевых являются источниками ценных биологически активных веществ – гликозидов, которые проявляют ярко выраженное адаптогенное, антибактериальное, противогрибковое, противокашлевое действие (женьшень, аралия маньчжурская, заманиха высокая, элеутерококк колючий, лимонник китайский, плющ обыкновенный) [3].

*Fatshedera lizei* – гибрид, полученный при скрещивании видов *Fatsia* L. и *Hedera* L., которые в настоящий момент являются достаточно исследованными культурами [4, 5]. При этом публикации, касающиеся получения каллусных культур фатсхедеры в научной печати отсутствуют.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили вегетативные органы *Fatshedera lizei*, культивируемые в условиях закрытого грунта. Растения содержали в вегетационных сосудах объемом 5 л, в субстрате, состоящем из смеси почвы, песка, керамзита и

перлита. В качестве инициальных эксплантов использовали листовые черешки и фрагменты ювенильных листьев. Для соблюдения условий асептики работу по введению в изолированную культуру выполняли в условиях ламинарного бокса. Поверхностную стерилизацию материала проводили гипохлоридом натрия (5 мин) с последующей промывкой в автоклавированной дистиллированной воде. Экспланты культивировали на агаризованных модифицированных питательных средах Мурасиге и Скуга (МС) [6], дополненных ИУК (индолил-3-уксусная кислота), 2,4-Д (2,4-дихлорфенилуксусная кислота), 6-БАП (6-бензиламинопурин), кинетином и аскорбиновой кислотой в различных концентрациях. Полученный первичный каллус субкультивировали на питательные среды того же состава. Цикл выращивания культур составлял 90-120 суток. В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2x20 см, содержащие 15 мл питательной среды. На каждый вариант питательной среды было высажено по 30 эксплантов определенного типа в 3-х кратной повторности. Экспланты культивировали при температуре 23-25°C, освещенности 4-5 клк и 16-часовом фотопериоде. Частоту каллусообразования оценивали в процентах по количеству эксплантов, давших каллус, от общего числа эксплантированных [7, 8].

Для химического анализа на содержание тритерпеновых гликозидов каллусные культуры, находящиеся в стационарной фазе роста, извлекали из культуральных сосудов и высушивали при комнатной температуре. Воздушно-сухую массу тщательно измельчали и экстрагировали 80% изопропиловым спиртом. Для определения тритерпеновых гликозидов использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ) на пластинках «Silufol», в нейтральной системе растворителей хлороформ-метанол-вода (100:40:7). Детектирование фракций тритерпеновых гликозидов на хроматограммах осуществляли 10% спиртовым раствором фосфорновольфрамовой кислоты с добавлением 2% параоксибензальдегида с последующим нагреванием хроматограмм при 100-120°C. В качестве контроля использовали водно-спиртовые экстракты из листьев *Fatshedera lizei* [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования по индукции каллусогенеза в культуре вегетативных органов *Fatshedera lizei* показали, что этот процесс в значительной степени зависел от состава питательной среды и не зависел от типа используемого экспланта (табл.1). Во всех исследуемых вариантах с применением экзогенных фитогормонов наблюдался каллусогенез, при этом максимальная частота (95,0±2,1) обнаруживалась на питательной среде МС7, дополненной 2,0 мг/л 2,4-Д; 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л БАП и на среде МС3, дополненной 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП, 1,0 мг/л кинетина и 0,5 мг/л ИУК.

Высокая частота каллусообразования как для ювенильных листьев, так и для листовых черешков (83,4-87,9 %) нами была установлена и на питательной среде МС6, содержащей 1,0 мг/л ИУК, 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л БАП. На других модификациях питательных сред частота каллусообразования была достоверно снижена, по сравнению с МС3, МС 6 и МС 7.

Таблица 1.

## Зависимость частоты каллусообразования от типа экспланта и состава питательной среды

Тип экспланта	Питательная среда	Концентрация фитогормонов в питательной среде, мг/л					Частота каллусообразования, %
		2,4-Д	6-БАП	кинетин	ИУК	аскорбиновая кислота	
Фрагменты ювенильных листьев	МС1	-	1,0	0,1	0,5	-	87,4±5,8
Фрагменты листовых черешков							51,2±3,5
Фрагменты ювенильных листьев	МС2	2,0	0,1	1,0	-	-	80,1±3,3
Фрагменты листовых черешков							55,2±2,7
Фрагменты ювенильных листьев	МС3	2,0	0,5	1,0	0,5	-	95,2±2,1
Фрагменты листовых черешков							88,3±4,3
Фрагменты ювенильных листьев	МС4	2,0	1,0	0,5	-	1,0	73,4±3,7
Фрагменты листовых черешков							42,1±3,2
Фрагменты ювенильных листьев	МС5	3,0	1,0	1,0	-	1,0	34,7±4,4
Фрагменты листовых черешков							25,5±1,7
Фрагменты ювенильных листьев	МС6	-	0,5	0,5	1,0	-	83,4±5,7
Фрагменты листовых черешков							87,9±4,2
Фрагменты ювенильных листьев	МС7	2,0	0,5	0,5	-	-	95,0±2,1
Фрагменты листовых черешков							94,0±2,1
Фрагменты ювенильных листьев	МС8	-	-	-	-	-	0
Фрагменты листовых черешков							0

При введении эксплантов в условия *in vitro* первые признаки каллусогенеза обнаруживались на 10-14 сутки культивирования, независимо от состава питательной среды и типа экспланта.

Каллус, индуцированный из эксплантов разного типа, имел светлую, слегка желтоватую окраску, характеризовался плотной консистенцией и невысокой интенсивностью роста (рис.1).

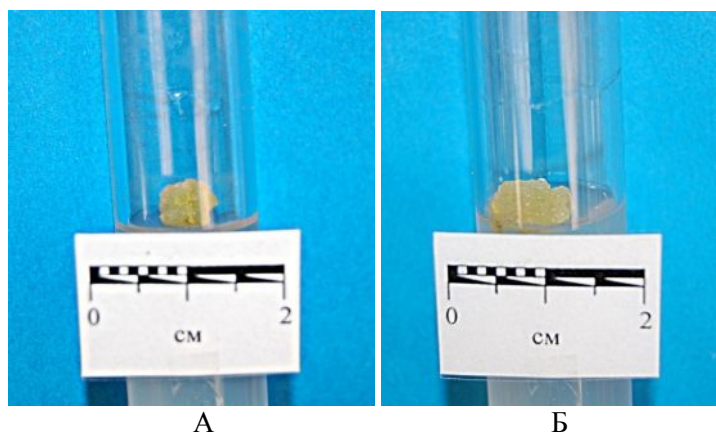


Рис.1. Первичная каллусная ткань *Fatshedera lizei*, полученная из листовых черешков (А) и фрагментов ювенильных листьев (Б).

При визуальном анализе каллусных культур нами не были выявлены признаки морфогенеза, каллус отличался относительной гомогенностью структуры.

После 45 суток культивирования каллус пересаживали на свежую питательную среду. Для пассирования каллуса, индуцированного в культуре фрагментов ювенильных листьев и фрагментов листовых черешков использовали среды, на которых частота каллусообразования была наибольшей (см. табл. 1).

Наши исследования показали, что наименьший прирост биомассы каллуса (100%) наблюдался на модифицированной питательной среде, дополненной 1,0 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л кинетином и 0,5 мг/л ИУК. С увеличением концентрации кинетина в питательной среде прирост биомассы каллуса возрастал и на питательной среде с 2,0 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л 6-БАП, 1,0 мг/л кинетином и 0,5 мг/л ИУК достигал наибольшего значения – 200% (табл. 2).

**Таблица 2**  
**Влияние гормонального состава питательной среды на прирост биомассы каллуса**

Вариант питательной среды	Концентрация фитогормонов в питательной среде, мг/л					Прирост биомассы, %
	2,4-Д	6-БАП	кинетин	аскорбиновая кислота	ИУК	
МС1	-	1,0	0,1	-	0,5	100
МС2	2,0	0,1	1,0	-	-	150
МС3	2,0	0,5	1,0	-	0,5	200

Цитологическое исследование первичного и пассируемого каллуса *Fatshedera lizei* проводили на временных давленных препаратах, окрашенных метиленовым синим. Гистологическая дифференциация клеток была выражена слабо. Пассируемый каллус отличался значительной вариабельностью клеток по размерам

и форме. В нем четко дифференцировались клетки меристематического и паренхимного типов (рис. 2). Меристематические клетки отличались небольшими размерами и располагались локальными скоплениями. Они имели изодиаметрическую форму, крупное ядро и ядрышко. Ядрышко занимало значительную часть объема ядра и было окружено светлой зоной кариоплазмы. Цитоплазма слабо вакуолизированна.

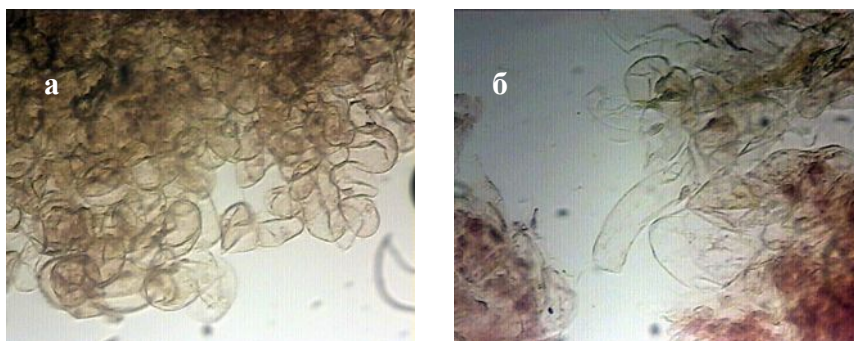


Рис. 2. Клетки каллусной ткани *Fatshedera lizei*: а – меристематические, б – паренхимные.

Округлые клетки имели хорошо выраженной ядро и отличались слабой вакуолизацией цитоплазмы. В удлинённых паренхимных клетках ядро визуально не дифференцировано, располагались они, как правило, локально, в местах скопления клеток меристематического типа.

При химическом анализе интактного материала *Fatshedera lizei* было выявлено 8 различных фракций тритерпеновых гликозидов (рис. 3b), из которых 5 фракций имеющие в качестве агликона – хедерагенин (сине-фиолетовые хроматографические зоны; В, D, E, F и H) и 3 фракции олеаноловой кислоты (хроматографические зоны розового цвета; А, С и G). По ТСХ фракции гликозидов идентифицированы с заведомыми образцами гликозидов. Установлено, что фракции А и В представляют собой 3-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозиды олеаноловой кислоты (1) и хедерагенина (2), соответственно. Фракции С и D – 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозиды олеаноловой кислоты (3) и хедерагенина (4), соответственно. Фракция E представляет собой 28-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидовый эфир 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина (5). Фракция F – 28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидовый эфир 3-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозид хедерагенина (6). Фракции G и H представлены 28-О- $\alpha$ -L-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-О- $\beta$ -D-глюкопиранозидовыми эфирами 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-О- $\alpha$ -L-арабинопиранозидов олеаноловой кислоты (7) и хедерагенина (8), соответственно. Данные гликозиды ранее были выделены из различных видов растений семейства Аралиевых.

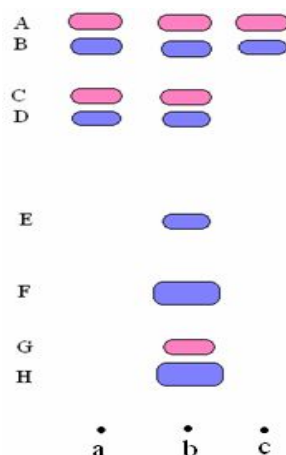
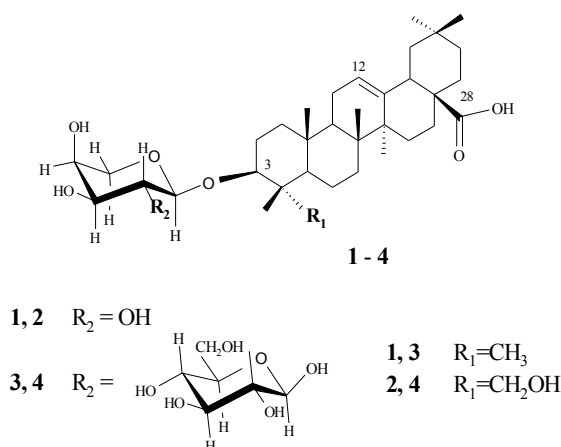


Рис. 3. Схема распределения гликозидных фракций из листьев интактных растений и каллусных культур черешков растения *Fatshedera lizei*.

1a – гликозидные фракции из каллуса, полученного на модифицированной питательной среде МС6;

2b – гликозидные фракции из листьев интактных растений;

3c – фракции из каллуса, полученного на модифицированной питательной среде МС7.



При анализе каллусных культур на содержание тритерпеновых гликозидов (рис. 3 а, с) нами установлено, что они отличаются от интактных эксплантов по фракционному составу исследуемых веществ и при этом важное значение имеет среда культивирования, более того продуцируются преимущественно монодесмозидные гликозиды, содержащие углеводный компонент только по атому агликона С-3. Так, при анализе каллусных культур, культивируемых на среде МС6

нами были идентифицированы 4 фракции гликозидов (**A, B, C, D**), а на среде МС7 только 2 фракции гликозидов (**A, B**).

Таким образом, проведенные исследования позволили подобрать составы питательных сред для индукции каллусогенеза из эксплантов вегетативных органов растения *Fatshedera lizei*. Химический анализ каллусных культур показал присутствие в них различных фракций тритерпеновых гликозидов. Изложенные результаты подтверждают уже известные факты о возможности получения клеточных культур растений, накапливающих тритерпеновые гликозиды. Так, в последние годы удалось получить экспериментальные доказательства о содержании тритерпеновых гликозидов в каллусных и суспензионных клеточных культурах *Ginkgo biloba* L., *Atroгене sibirica* L., *Ycca macrocarpa* Englem, *Dioscorea deltoidea* W., *Clematis vitalba* L., *Nerium oleander* L. При этом было показано, что биосинтез гликозидов зависит от типа экспланта, способности к гистогенезу, условий культивирования и состава питательной среды.

Поскольку исследований по получению каллусных культур *Fatshedera lizei* и анализу их на тритерпеновые гликозиды ранее не проводилось, настоящая работа является первым экспериментальным доказательством получения каллусных культур данного вида, содержащих спектр тритерпеновых гликозидов, аналогичных интактному растению.

#### ВЫВОДЫ

1. Подобраны составы питательных сред для индукции каллусогенеза и получения каллусной культуры из эксплантов вегетативных органов *Fatshedera lizei*.
2. Показано, что первичные и пассируемые каллусные культуры отличаются высоким уровнем морфологической гетерогенностью.
3. Установлено, что каллусные культуры из эксплантов ювенильных листьев и листовых черешков *Fatshedera lizei* содержат тритерпеновые гликозиды, характерные для интактного растения.

#### Список литературы

1. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / В.А. Кунах. – К. : Логос, 2005. – 730 с.
2. Носов А. М. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений / А.М. Носов // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. – М. : Наука, 1991. – С. 5–20.
3. Гришковец В. І. Тритерпенові глікозиди аралієвих: виділення, встановлення будови, біологічна активність та хемотаксономічне значення : автореф. дис... д-ра хім. наук : 02.00.10 / Гришковец Володимир Іванович; Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Багатського НАН України. – Одеса, 2004. – 39 с.
4. Кемоклидзе З. Тритерпеновые гликозиды фатсии японской – *Fatsia japonica*, культивируемой в Грузии и новый лекарственный препарат фатцифлогин : автореф. дис. ... канд. фармац. наук спец: 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакология / Зураб Кемоклидзе; АН Грузии, Ин-т фармаколог. – Тбилиси, 1999. – 26 с.
5. Смычков В. Ф. Противовоспалительные свойства сапонинов плюща колхидского / В.Ф. Смычков, Н.Ф. Фаращук // Здоровоохр. Белоруссии. – 1975. – Т. 2, № 11. – С. 27.
6. Murashige T.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Plant Physiol. – 1962. – V.15. – P. 473–497.

7. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – К. : Наукова думка, 1980. – 488 с.
8. Культура клеток растений : [Сб. ст.] / АН СССР, Ин-т физиологии им. К. А. Тимирязева, Отв. ред. Р.Г. Бутенко. – М. : Наука, 1981. – 168 с.

**Чмелюва С.І. Калусні культури *Fatshedera lizei* - продуценти тритерпенових глікозидів / С.І. Чмелюва, Т.Ю. Брановицька, Д.О. Панов, О.В. Омельченко, І.О. Бугара // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 313-320.**

Досліджено особливості індукції калусогенезу в культурі вегетативних органів *Fatshedera lizei*. Підбрано модифікації живильних середовищ Мурасіге і Скуга для калусогенезу. Перепасований калус відрізнявся високим рівнем морфологічної гетерогенності. Отримано експериментальні докази про присутність в калусних культурах різних фракцій тритерпенових глікозидів, аналогічних інтактній рослині.

**Ключові слова:** *Fatshedera lizei*, калусна культура, тритерпенові глікозиди.

**Chmeleva S.I. Callus cultures *Fatshedera lizei* - producers of triterpene glycosides / S.I. Chmeleva T.Y. Branovitskaya, D.A. Panov, A.V. Omelchenko, I.A. Bugara // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 313-320.**

The features of the induction of callus induction in the culture of the vegetative organs *Fatshedera lizei*. Podobranny modification of culture media Murashige and Skoog medium for callus induction. Passiruemy callus has a high level of morphological heterogeneity. Experimental evidence of the presence of callus cultures of different fractions of triterpene glycosides similar to intact plants.

**Keywords:** *Fatshedera lizei*, callus culture, triterpene glycosides.

*Поступила в редакцію 26.05.2011 г.*



**УДК 616.12.-008.318:613.614.2**

**ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ  
НАГРУЗКИ В УСЛОВИЯХ ПРЕВЕНТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ  
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ  
ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ**

*Чуян Е.Н., Никифоров И.Р.*

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

Изучены изменения показателей variability сердечного ритма в течение 30-минут восстановительного периода после субмаксимальной физической нагрузки у испытуемых под воздействием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ). Показано, что превентивное десятидневное действие ЭМИ КВЧ обладает выраженным антистрессорным действием в ответ на субмаксимальную физическую нагрузку, а также в повышению скорости восстановительных процессов.

**Ключевые слова:** variability сердечного ритма, излучение крайне высокой частоты, велоэргометрическая проба, восстановительный период.

**ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время наиболее перспективным научным направлением в биологии и медицине является изучение современных экологически чистых и экономичных технологий с использованием физических факторов, в том числе и электромагнитных излучений (ЭМИ) разных диапазонов. Особую роль в этом направлении занимает низкоинтенсивное ЭМИ крайневых частот (КВЧ) или миллиметрового (мм) диапазона. В последние годы эта проблема обсуждается учеными различных специальностей, ей посвящены крупнейшие международные симпозиумы и конференции, проводимые Bioelectromagnetic Society и European Bioelectromagnetic Association.

В связи с высокой биологической эффективностью ЭМИ КВЧ используется в медицинской практике для лечения широкого круга заболеваний [1–3], в том числе сердечно-сосудистой системы (ССС). В частности, за прошедшие годы накоплен огромный опыт использования мм излучения для лечения стабильной и нестабильной стенокардии, ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, инфаркта миокарда [4–6]. Однако при этом, как правило, отсутствуют объективные критерии оценки адекватности и эффективности проводимой терапии с точки зрения функционального состояния всей ССС, взаимодействия ее отделов между собой, определяемого координацией функционирования основных механизмов регуляции. При этом известно, что ССС является высокочувствительным индикатором

адаптационных реакций всего организма человека на воздействия факторов разной природы и интенсивности. Судить о степени напряжения регуляторных механизмов ССС можно с помощью различных методов, но наиболее простым и доступным из них является математический анализ variability сердечного ритма (ВСР), отображающей реакцию целостного организма в ответ на любое воздействие факторов внешней и внутренней среды [7].

Для увеличения эффективности данной диагностики применяются различные методы, направленные на определение гомеостатических возможностей организма. Одной из наиболее эффективных методик в данном направлении, является проведение физических проб, в частности велоэргометрической (ВЭП) с субмаксимальной и максимальной нагрузками.

ВЭП является идеальным и наиболее физиологичным видом воздействия, позволяющим оценить компенсаторно-приспособительные реакции организма, а также имеет ряд преимуществ перед другими нагрузочными пробами: адекватность и точная дозировка рабочей нагрузки обследуемого; возможность моделирования состояния физического напряжения и стресса [8]. В связи с этим, исследование ВСР с использованием ВЭП хорошо отражает степень напряжения регуляторных систем организма, обусловленную возникающей в ответ на любое стрессорное воздействие активацией симпатoadренальной системы (САС) [9-10].

Таким образом, целью данной работы явилось исследование показателей ВСР в период восстановления после ВЭП в условиях превентивного воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 95 условно здоровых студентов-волонтеров женского пола в возрасте 18-21 года в межменструальном периоде. Все испытуемые дали добровольное согласие на участие в исследовании.

В качестве метода оценки влияния ЭМИ КВЧ и физической нагрузки на организм был использован математический анализ ВСР (в системе оценок, рекомендуемых стандартами Европейского Кардиологического Общества и Северо-Американского общества стимуляции и электрофизиологии [11]). Исследование ВСР проводили ежедневно путем регистрации ЭКГ сигнала в первом стандартном отведении с помощью программно-аппаратного комплекса «Омега-М» (производство научно-исследовательской лаборатории «Динамика», г. Санкт-Петербург).

Предварительная запись ВСР выявила индивидуально-типологические отличия у испытуемых, связанные, в частности, со значениями индекса напряженности (ИН). Согласно классификации Р.М. Баевского [12], ИН отражает активность вегетативной нервной системы, при этом испытуемых со средними значениями ИН ( $50 \leq \text{ИН} \leq 200$  усл.ед.) относят к нормотоникам, с высокими значениями ( $\text{ИН} \geq 200$  усл.ед.) – к симпатотоникам и низкими ( $\text{ИН} \leq 50$  усл.ед.) – к ваготоникам. В эксперименте принимали участие испытуемые только со средними значениями ИН, количество которых составило 60% от общего числа волонтеров. Такой отбор позволил получить наиболее однородную группу.

Отобранные в эксперимент испытуемые были разделены на две группы: контрольную (n=25) и экспериментальную (n=32). Испытуемые экспериментальной группы предварительно подвергались действию низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ, а волонтеры контрольной группы – плацебо-воздействию (без включения КВЧ-генератора в сеть).

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось на протяжении 10 дней, ежедневно, в утреннее время суток на 7-миканальном аппарате «РАМЕД. ЭКСПЕРТ-04» (производство научно-исследовательской лаборатории «Рамед», г. Днепропетровск; регистрационное свидетельство МЗ №783/99 от 14.07.99, выданное КНМТ МОЗ Украины о праве на применение в медицинской практике в Украине). Технические характеристики: длина волны = 7,1 мм, частота излучения 42,4 ГГц, плотность потока мощности – 0,1 мВт/см<sup>2</sup>. Воздействие осуществлялось в течение 30 минут на области биологически активных точек: GI-15 правого плечевого сустава, на симметричные E-34, RP-6 и GI-4. Выбор этих точек обусловлен их рефлексогенным общеукрепляющим и стимулирующим действием на организм [13].

ВЭП проводили на 11-ые сутки эксперимента, на велоэргометре «KETTLER X1» (производство GmbH&Co, Германия) по методике ступенеобразно непрерывно возрастающих нагрузок [14], данный метод рекомендован к применению комитетом экспертов ВОЗ. Исследование начинали с минимальной нагрузки мощностью 75 Вт, в дальнейшем при непрерывной работе нагрузка последовательно увеличивалось до 100 и 125 Вт на каждой ступени соответственно. Длительность пробы составляла 9 мин – по 3 мин на каждой ступени. При проведении пробы темп мощности (частота вращения педалей) выполняемой нагрузки составлял 40–50 об/мин. Основным критерием функционального состояния являлась частота сердечных сокращений, увеличение которой не должно было превышать расчетного сумбаксимального уровня, составляющего по критериям ВОЗ (1971 г.) 170 уд/мин для данной возрастной группы [15, 16].

Запись ВСП проводилась на протяжении 10-тидневного курса КВЧ терапии, а также на 11-е сутки до и после ВЭП. В работе были использованы спектральные методы анализа ВСП (HF, LF, VLF, TP LF/HF) и интегральный показатель геометрического метода – ИН, способы определения которых подробно описаны в наших предыдущих исследованиях [17].

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета программ «Омега-М» и «Статистика 6.0». Достоверность различий полученных данных определяли с помощью критериев Манна-Уитни и Вилкоксона.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Как показали результаты проведенного исследования, у испытуемых контрольной группы, на протяжении 10-ти дней эксперимента, не происходило достоверных изменений исследуемых показателей.

Вместе с тем, в экспериментальной группе испытуемых были выявлены достоверные изменения всех рассматриваемых показателей.

Так, на 10-е сутки наблюдения значения ИН у испытуемых экспериментальной группы снизились на 36% ( $p \leq 0,01$ ) относительно значений данного показателя у испытуемых контрольной группы (рис. 1-А).

В результате проведения спектрального анализа ВСР на 10-е сутки эксперимента было выявлено достоверное ( $p \leq 0,05$ ) увеличение значений HF на 217%, LF – 30% и TP – 64% (рис 2-А). Изменения VLF были не достоверны.

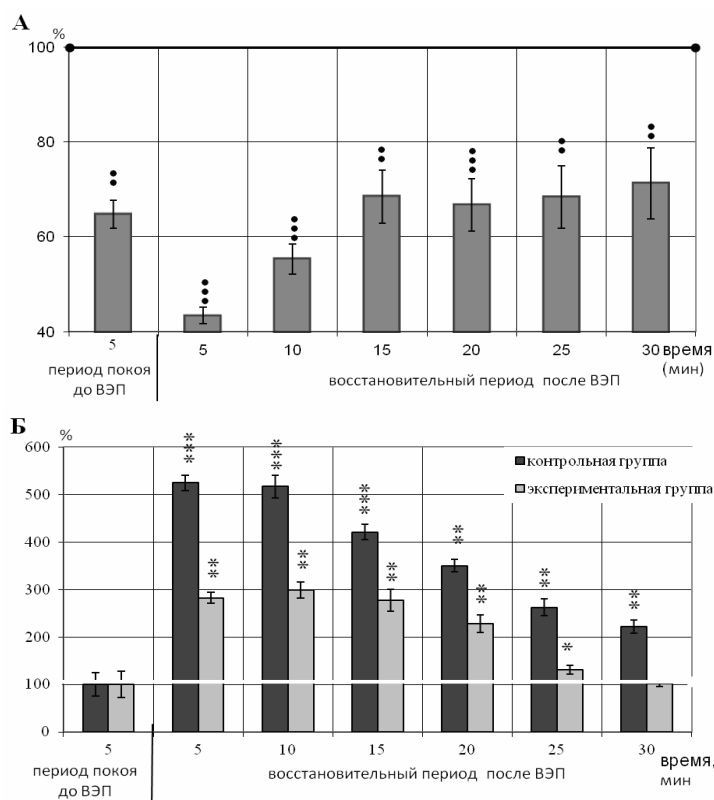


Рис. 1. Динамика значений индекса напряженности во время восстановительного периода после велоэргометрической пробы у испытуемых на 11-е сутки эксперимента:

А – экспериментальной группы по отношению к значениям в контрольной группе испытуемых, принятых за 100%;

Б – контрольной и экспериментальной групп по отношению к значениям этого показателя в период покоя, принятых за 100%.

Примечание: достоверность по отношению к фоновым значениям: \* – ( $p \leq 0,05$ ), \*\* – ( $p \leq 0,01$ ), \*\*\* – ( $p \leq 0,001$ );

по отношению к контрольным значениям: • – ( $p \leq 0,05$ ), •• – ( $p \leq 0,01$ ), ••• – ( $p \leq 0,001$ ).

Вместе с тем, происходило достоверное изменение коэффициента симпатовагусного взаимодействия (LF/HF), значения которого к 10-м суткам эксперимента составили 41% ( $p \leq 0,01$ ) (рис. 3-А) относительно значений в контрольной

группе испытуемых. Кроме того, значения данного показателя приблизились к единице, что указывает на вегетативный баланс организма и наибольшую автономность регуляции сердечного ритма (СР) у испытуемых данной группы.

Таким образом, под влиянием 10-тидневного воздействия ЭМИ КВЧ, у испытуемых экспериментальной группы наблюдалось снижение напряжения регуляторных систем организма и увеличение активности автономного контура регуляции СР, при этом происходило перераспределение тонуса между симпатическим и парасимпатическим отделами вегетативной нервной системы (ВНС), приводящее в конечном итоге к нормализации и стабилизации процессов регуляции, что в свою очередь согласуется с результатами ранее проведенных нами исследований [17].

Проведение ВЭП привело к достоверному изменению значений всех рассматриваемых показателей у испытуемых обеих групп.

Так, у испытуемых контрольной группы к 5-ой мин восстановительного периода значения ИН составили 524% ( $p \leq 0,001$ ) относительно исходных значений (рис. 1-Б). В течение последующих 30-ти мин происходило постепенное снижение данного показателя, однако и к окончанию восстановительного периода его значения превышали исходные на 121% ( $p \leq 0,01$ ).

Известно, что ИН отражает уровень напряженности регуляторных систем организма [18]. Для сравнения заметим, что легкая физическая нагрузка сопровождается увеличением ИН в 1,5–2,0 раз [19], а эмоциональный предэкзаменационный стресс в 1,1–3,9 раза [20], в 1,4–1,7 раза у космонавтов во время магнитной бури [21], в 20–30 раз у спортсменов, участвующих в соревнованиях по спортивным играм и в единоборствах, что свидетельствует о состоянии сильнейшего функционального напряжения, «на грани срыва адаптации» [22].

Таким образом, увеличение ИН более чем в 4 раза, к 5-й мин восстановительного периода после ВЭП и сохранение высоких значений к 30-мин свидетельствует о высоком уровне напряжения регуляторных систем организма, и низкой эффективности восстановительных процессов, что может быть вызвано развитием стресс-реакции на физическую нагрузку у испытуемых данной группы.

Полученные данные подтверждаются анализом спектральных характеристик ВСР. Так, к 5-ой мин восстановительного периода значения показателей HF, LF и TP составили 22,1%, 15,2%, и 19,7% ( $p \leq 0,001$ ) соответственно по отношению к фоновым значениям (рис. 2-Б). В течение последующих 30-ти мин происходило постепенное увеличение значений данных показателей и к окончанию восстановительного периода они составляли 43,9%, 70%, и 52,6% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно, по отношению к исходным значениям, то есть не достигали исходного уровня.

В настоящее время считается установленным, что HF-компонента спектра отражает вагусный контроль сердечного ритма СР, тогда как LF-составляющая характеризует состояние симпатического отдела ВНС [11] и, в частности, системы регуляции сосудистого тонуса. В свою очередь TP отражает суммарную активность вегетативных воздействий на СР. Вагусная активация обычно сопровождается увеличением TP [17], в то время как при повышении активности симпатического отдела ВНС значения этого показателя снижаются [23].

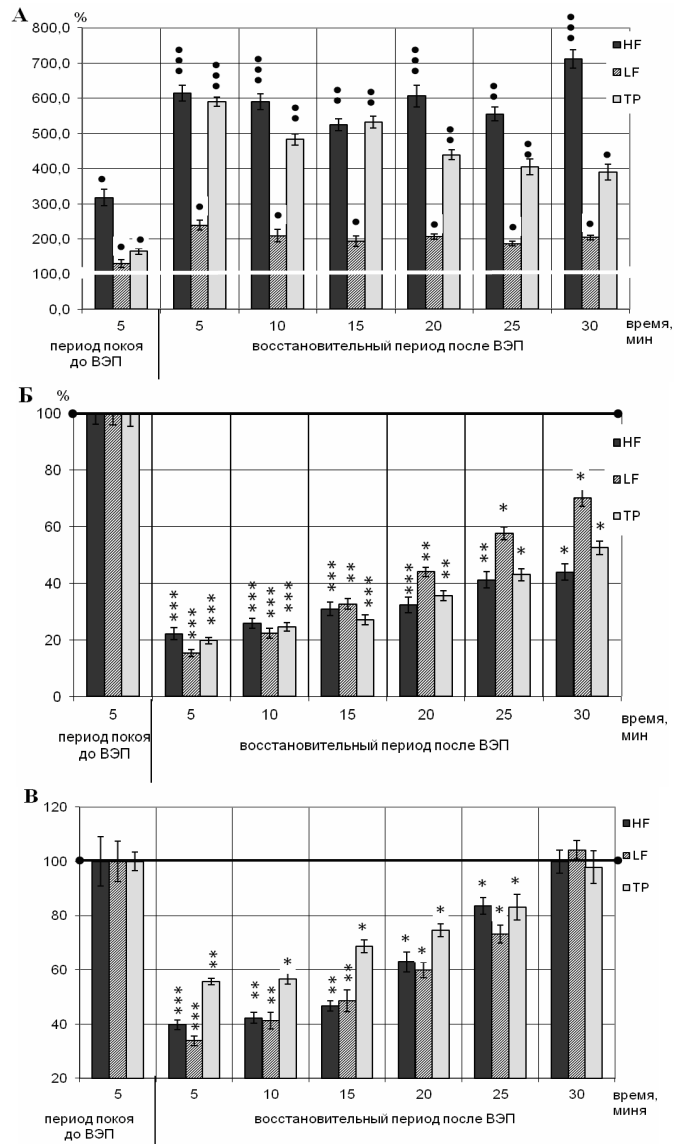


Рис. 2. Динамика значений показателей спектрального анализа в восстановительный период у испытуемых:

А – экспериментальной группы по отношению к значениям этих показателей в контрольной группе испытуемых, принятых за 100%;

Б – контрольной группы по отношению к значениям этих показателей в период покоя, принятых за 100%;

В – экспериментальной группы по отношению к значениям этих показателей в период покоя, принятых за 100%.

Примечание: обозначения те же, что и на рис. 1.

Таким образом, значительное снижение показателей спектрального анализа у испытуемых контрольной группы в восстановительный период после ВЭП, свидетельствует о преобладании активности симпатического контура регуляции над парасимпатическим, а также усилении активности центрального контура регуляции СР у испытуемых контрольной группы.

Проведение ВЭП у волонтеров контрольной группы привело и к существенному изменению коэффициента симпатовагусного взаимодействия. Так, к 5-ой мин восстановительного периода значения LF/HF увеличились на 84% относительно фоновых значений ( $p \leq 0,001$ ) (рис. 3-Б) и составили 4,4. В течение последующих 30-ти мин происходило незначительное снижение данного показателя, но при этом к окончанию восстановительного периода его значения оставались на 60% больше исходного уровня этого показателя.

Известно, что данный показатель отображает относительную активность САС организма [16]. Следовательно, существенное увеличение значения LF/HF к 5-мин, а также отсутствие его полного восстановления к 30 мин после ВЭП свидетельствует о значительном повышении активности САС после физической нагрузки.

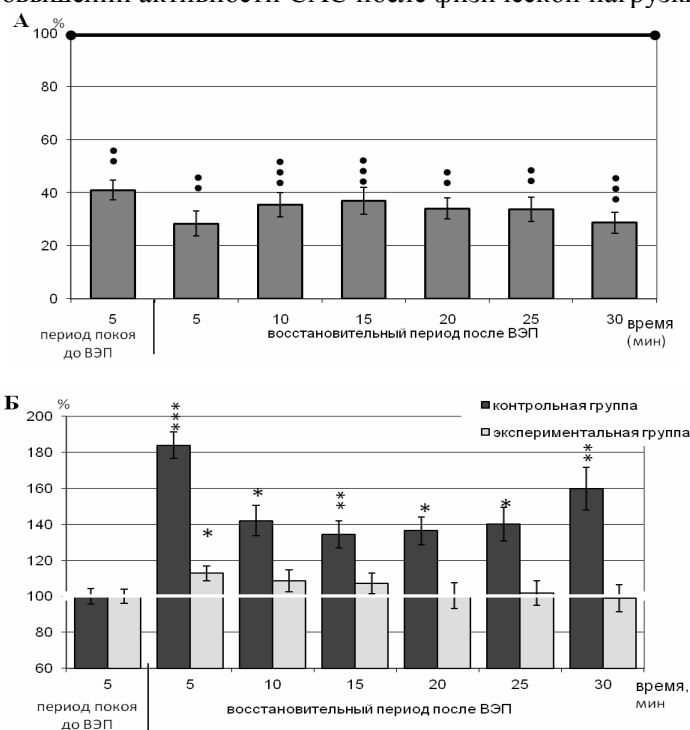


Рис.3. Динамика значений коэффициента симпатовагусного баланса во время восстановительного периода после ВЭП у испытуемых:

А – экспериментальной группы по отношению к значениям в контрольной группе испытуемых, принятых за 100%;

Б – контрольной и экспериментальной групп по отношению к значениям этого показателя в период покоя, принятых за 100%.

Примечание: обозначения те же, что и на рис. 1.

Таким образом, значительное усиление активности центрального контура регуляции СР, снижение активности вагусных влияний и чрезмерная активация САС, одной из основных стресс-реализующих систем организма, на фоне низкой эффективности восстановительных механизмов, согласно [16, 18, 24] являются типичной реакцией организма на стресс.

Проведение ВЭП в экспериментальной группе испытуемых привело к менее выраженным изменениям значений всех рассматриваемых показателей.

Так, значения ИН к 5-ой мин восстановительного периода составили 282% ( $p \leq 0,01$ ) (рис. 1-Б) по отношению к исходным значениям, что на 57% ( $p \leq 0,001$ ) меньше, чем у испытуемых контрольной группы.

К 30-й минуте восстановительного периода произошло полное восстановление значений данного показателя, о чем свидетельствует отсутствие достоверностей по отношению к исходным значениям. Таким образом, полученные изменения свидетельствуют о том, что в результате превентивного 10-тикратного КВЧ-воздействия произошло менее выраженное повышение уровня напряжения регуляторных систем организма у испытуемых после проведения ВЭП.

Менее выраженные изменения были выявлены и при проведении анализа спектральных характеристик ВСР.

Так, значения HF, LF и TP к 5-ой мин восстановительного периода составили 39,6% ( $p \leq 0,001$ ), 33,8% ( $p \leq 0,001$ ) и 55,9% ( $p \leq 0,01$ ) соответственно (рис. 2-В), по отношению к исходным значениям, превышая при этом значения данных показателей в контрольной группе на 514%, 74% и 490% ( $p \leq 0,05$ ) соответственно (рис. 2-А). В течение последующих 30-ти мин восстановительного периода произошло полное восстановление значений данных показателей по отношению к значениям этих показателей до ВЭП ( $p \leq 0,05$ ).

Следовательно, превентивное курсовое КВЧ-воздействие привело к менее выраженной централизации управления СР в ответ на субмаксимальную физическую нагрузку.

Многokратное КВЧ-воздействие привело и к тому, что значения коэффициента LF/HF также претерпевали меньшие изменения под воздействием физической нагрузки. Так, к 5-ой мин восстановительного периода значения данного показателя увеличились на 12 % (рис. 3-Б) и составили 1,3. При этом отсутствие достоверных различий с фоновыми значениями наблюдалось уже к 10-й минуте восстановительного периода. Данные изменения свидетельствуют о незначительном увеличении активности САС и быстром восстановлении вегетативного баланса организма в данной группе испытуемых.

Таким образом, изначально низкий уровень напряжения регуляторных систем организма и высокая активность автономного контура регуляции СР у испытуемых экспериментальной группы в покое, достигнутый благодаря превентивному КВЧ-воздействию, привели к тому, что в результате проведения ВЭП не происходило значительного снижения активности вегетативных воздействий на СР и чрезмерного напряжения регуляторных систем организма у испытуемых экспериментальной группы. При этом незначительное изменение баланса между отдельными компонентами вегетативной нервной системы после проведения ВЭП и быстрое его



восстановление к изначальному уровню, свидетельствует об отсутствии гиперактивности САС организма.

Полученные данные подтверждаются и нашими ранее проведенными исследованиями на животных, в которых было показано, что ЭМИ КВЧ обладает антистрессорным действием, и приводит к подавлению чрезмерной активности САС, а, следовательно, отсутствию развития стресс-реакции на физическую нагрузку и увеличению активности стресс-лимитирующих систем, причем как при предварительном, так и комбинированном со стресс-фактором действии [25].

Вместе с тем, проведенное исследование дополняет вышеизложенные данные и свидетельствует о стресс-лимитирующем действии ЭМИ КВЧ при поведении субмаксимальных физических нагрузок у испытуемых экспериментальной группы.

### **ВЫВОДЫ**

1. Проведение 10-тикратного КВЧ-воздействия привело к снижению напряженности регуляторных систем (снижение ИН на 36%;  $p \leq 0,01$ ), а также к увеличению текущей мощности спектра (на 64%;  $p \leq 0,01$ ), причем тот факт, что увеличение мощности HF компоненты (на 217%;  $p \leq 0,05$ ) спектра происходило в гораздо большей мере, чем мощности LF компоненты (на 30%;  $p \leq 0,05$ ) свидетельствует о большей активации парасимпатического отдела ВНС и нормализации вегетативных влияний на сердце.
2. Проведение велоэргометрической пробы в контрольной группе испытуемых привело к изменению всех рассматриваемых показателей (снижение HF на 78%, LF на 85%, TP на 81% ( $p \leq 0,01$ ) и увеличение LF/HF на 84% и ИН на 424% ( $p \leq 0,001$ )) к 5-ой минуте восстановительного периода после ВЭП, а также отсутствие их полного восстановления к 30 минуте, свидетельствуют о развитии стресс-реакции в ответ на субмаксимальную физическую нагрузку.
3. После проведения велоэргометрической пробы у испытуемых прошедших 10-тикратное КВЧ-воздействие происходило менее выраженное изменение всех рассматриваемых показателей (снижение HF на 61%,  $p \leq 0,001$ ; LF на 67%,  $p \leq 0,001$ ; TP на 45%,  $p \leq 0,01$ ; и увеличение LF/HF на 12%,  $p \leq 0,05$ ; и ИН на 182%;  $p \leq 0,01$ ) на 5-ю мин восстановительного периода у испытуемых экспериментальной группы также происходили менее выражено, чем в контрольной группе, что свидетельствует об отсутствии развития стресс-реакции у испытуемых экспериментальной группы, а полное их восстановление к 30 минуте, свидетельствует о быстром восстановлении вегетативного баланса.

### **Список литературы**

1. Соломаха А.А. Крайневысокочастотная терапия в медицине / А.А. Соломаха, Д.А. Соломаха, В.В. Якунин, М.М. Нигматов / Вестник службы крови России. – 2009. № 3 – 34-36 с.
2. Бецкий О. В. Применение низкоинтенсивных миллиметровых волн в биологии и медицине Application of Low-Intensity Millimeter Waves in Biology and Medicine / О. В. Бецкий, Н.Н.Лебедева / Биомедицинская радиоэлектроника – 2007. – № 8. – 6-15 с.
3. Крюков В.И. Норма, адаптация и эффект плацебо при воздействии крайневысокочастотных электромагнитных излучений на организм человека / В.И. Крюков, Т.И. Субботина, А.А Яшин / Вестник новых медицинских технологий. – 1998. – Т.5, № 2. – 15-17 с.

4. Гапонюк П.А. Влияние низкоинтенсивного ЭМИ миллиметрового диапазона на биоэлектрическую активность периферических и центральных нервных структур и системную гемодинамику больных гипертонической болезнью / П.А. Гапонюк, А.Е. Столбиков, Т.Ю. Шерковина / Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 1988. – № 3. – 14-18 с.
5. Головачева Т.В. Некоторые патогенетические аспекты применения ЭМИ ММД у больных стенокардией / Т.В. Головачева, В.Ф. Киричук, В.Ф. Петрова / Применение низкоинтенсивных лазеров и излучения миллиметрового диапазона в эксперименте и клинике. – Саратов, 1994. – 210-213с.
6. Паршина С.С. Индивидуальный подход к назначению КВЧ-терапии у больных стенокардией / С.С. Паршина, В.Ф. Киричук, Т.В. Головачева / Миллиметровые волны в биологии и медицине. – М.: МТА КВЧ, 1995. – 31-33 с.
7. Баевский Р. М. Оценка функционального состояния организма на основе математического анализа сердечного ритма: метод. рек. / Р. М. Баевский, Ж. Ю. Барсукова / Владивосток: ДЦО АН СССР, 1989. – 40 с.
8. Тавровская Т.В. Велоэргометрия. / Т.В. Тавровская / Санкт-Петербург: СПб, 2007 – 138 с.
9. Ванюшин Ю.С. Адаптация сердечной деятельности подростков к нагрузке повышающейся мощности / Ю.С. Ванюшин, Ф.Г. Ситдииков / Физиология человека. 2001. Т. 27 № 2. 91-97с.
10. Гриднев В.И. Применение спектрального анализа variability сердечного ритма для повышения диагностической значимости нагрузочных проб / В.И. Гриднев, А.Р. Киселев, О.М. Посненкова / Вестник Санкт-Петербургского университета. 2008. – Сер.11, вып 2.– 18-31с.
11. Variability of heart rate: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use / Working Group of the European College of Cardiology, the American College of Cardiology and the American Heart Association // Вестник Аритмол. – 1999. – №11. 53-78 с.
12. Баевский Р.М. Оценка функционального состояния организма на основе математического анализа сердечного ритма: метод. рек. / Р. М. Баевский, Ж. Ю. Барсукова / Владивосток: ДЦО АН СССР, 1989. – 40 с.
13. Мачерет Б.Л. Руководство по рефлексотерапии / Е.Л. Мачерет, И.З. Самосюк / Киев: «Вища школа» – 1984 – 304 с.
14. Проведение пробы с физической нагрузкой с использованием пакета программ «КардиоКит»: метод. рекомендации.– СПб: Биосигнал, 2003. – 24 с.
15. Andersen K. Fundamentals of exercise testing / K. Andersen, R. Shephard, H. Denolin / Geneva, 1979. – 320 p.
16. Михайлов В.М. Variability ритма сердца: опыт практического применения. / В.М. Михайлов / Иваново: Иван. гос. мед. академия, 2002. – 290 с.
17. Чуян Е.Н. Изменение показателей variability сердечного ритма под влиянием низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Е.Н. Чуян, И.Р.Никифоров, М.Ю. Раваева / – Физика живого, Т. 17, No2, 2009. – 206-213 с.
18. Баевский Р.М. Математический анализ сердечного ритма при стрессе / Р.М. Баевский, О.И. Кирилов / – М.: Наука, 1984. – 220 с.
19. Баевский Р.М. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, Л.В. Чирейкин / Вестник аритмологии. – 2001. – Т. 24., 66-85 с.
20. Щербатых Ю.В. Вегетативные проявления экзаменационного стресса: автореферат дис.... д-ра биол. наук. – СПб., 2001. – 12 с.
21. Григорьев А.И. Концепция здоровья и проблема нормы в космической медицине / А.И. Григорьев Р.М. Баевский / – М.: Ф-ма «Слово», 2001. – 96 с.
22. Агаджанян Н.А. Соревновательный стресс у представителей различных видов спорта по показателям variability сердечного ритма / Н.А. Агаджанян, Т.Е. Батоцыренова, Ю.Н. Семенов / Теория и практика физической культуры. – 2006. – №1. 2-4 с.
23. Richter D. W., Spyer K. M Central regulation of autonomic functions. / Cardiorespiratory control – NY: Oxford Univ. Press, 1990. – 189-207 p.
24. Похачевский А.Л. Функциональное состояние и адаптационные резервы организма / А.Л. Похачевский, В.М. Михайлов, А.А. Груздев, А.В. Садков / Вестник новг. гос. Университета, 2006. – № 35., 11-15 p.

25. Чуян Е.Н. Нейроиммуноэндокринные механизмы адаптации к действию низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты: дис доктора биологических наук: Е. Н. Чуян – Д, 004. – 417с

**Чуян О.М. Вариабельність серцевого ритму після фізичного навантаження в умовах превентивного впливу низькоінтенсивним міліметровим випромінюванням / О.М. Чуян, І.Р. Нікіфоров // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 321-331.**

Вивчено зміни показників варіабельності серцевого ритму протягом 30-хвилин відновного періоду після субмаксимальної фізичного навантаження у випробовуваних під впливом низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надвисокої частоти (ЕМВ НВЧ)

Показано, що превентивне десятиденне дія ЕМВ НВЧ володіє вираженою антистресовою дією у відповідь на субмаксимальної фізичне навантаження, а також підвищенням швидкості відновних процесів.

**Ключові слова:** варіабельність серцевого ритму, випромінювання вкрай високої частоти, велоергометрическая проба, відновлювальний період.

**Chuyan E.N. Anti-inflammatory activity of salicylic and acetylsalicylic acids and its salts / E.N. Chuyan, I.R. Nikiforov // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 321-331.**

Changes of heart rate variability during the 30-minute recovery period after submaximal exercise in subjects under the influence of low-intensity electromagnetic radiation of extremely high frequency (EMR EHF).

It is shown that the preventive effect of a ten EMR EHF has a marked antistress action in response to submaximal exercise, as well as to increase the speed of recovery.

**Keywords:** heart rate variability, extremely high frequency radiation, veloergometricheskaya sample, the recovery period.

*Поступила в редакцію 07.06.2011 г.*

**УДК 591.5:612.014.46**

## **ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕЙ САЛИЦИЛОВОЙ И АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТ**

*Яковчук Т.В., Катюшина О.В., Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И., Гамма Т.В.,  
Чертаев И.В., Колотилова О.И.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: katsea87@mail.ru*

В работе с помощью «формалинового теста» показано наличие противовоспалительной активности ацетилсалицилатов кобальта (АСК) и цинка (АСЦ) и салицилатов кобальта (СК) и цинка (СЦ). При этом АСЦ оказался более эффективным противовоспалительным средством, чем аспирин, который является классическим противовоспалительным препаратом.

**Ключевые слова:** аспирин, салицилат кобальта, салицилат цинка, ацетилсалицилат кобальта, ацетилсалицилат цинка, «формалиновый тест».

### **ВВЕДЕНИЕ**

Аспирин (или ацетилсалициловая кислота) относится к классу нестероидных противовоспалительных препаратов, которые сочетают в себе также жаропонижающее и болеутоляющее действие [1, 2]. Большая "популярность" НПВП объясняется тем, что они вызывают неспецифический противовоспалительный эффект, оказывая тормозное влияние на любой воспалительный процесс независимо от его этиологических и нозологических особенностей [3]. Антифлогистический эффект аспирина, как и других НПВП основан на ингибировании ферментов класса циклооксигеназ [4, 5], которые играют ключевую роль в протекании воспалительных процессов. В результате чего тормозится биосинтез одних из основных медиаторов воспаления – простагландинов (ПГ) [6, 7]. Однако, как и почти все НПВП, аспирин вызывает ряд побочных эффектов: провоцирует язвообразование в желудке, оказывает отрицательное воздействие на клетки печени и крови [3, 8, 9, 10]. Одной из причин этого является нарушение функционирования и регуляции энергетического метаболизма клеток печени, в частности цикла Кребса. Известно, что аспирин и его производные могут влиять на различные процессы, протекающие в митохондриях клеток печени, уменьшает концентрацию кофермента А, разобщает окислительное фосфорилирование, ингибирует  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназу, сукцинатдегидрогеназу и  $\beta$ -окисление жирных кислот [11]. В рамках исследовательского проекта «Биологические функции металлорганических соединений», который финансируется Немецким Научным Фондом, было выявлено, что комплекс гексакарбонилдикобальта с аспирином («Со-аспирин») ингибирует ферментативную активность циклооксигеназ по иному, чем

аспирин, механизму: аспирин ацетирует сериновые остатки в активном центре циклооксигеназ, а «Со-аспирин» не атакует эти группы, а ацетирует несколько других сайтов. Такое действие «Со-аспирина» также может блокировать работу активного центра циклооксигеназы, однако эта активность будет иметь другое происхождение, возможно с меньшим спектром побочного действия [12]. В связи с этим, соли салициловой и ацетилсалициловой кислот (ацетилсалицилата цинка – АСЦ, ацетилсалицилата кобальта – АСК, салицилата цинка – СЦ, салицилата кобальта – СК) являются интересным объектом исследования противовоспалительной активности в поиске более эффективного препарата, чем широко используемый аспирин.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования проводились на 140 взрослых белых крысах-самцах массой 200-250 г. Для экспериментов отбирали животных со средней двигательной активностью, преобладающих в популяции и, следовательно, можно утверждать, что именно у этих крыс будет развиваться наиболее типичная реакция на любое воздействие.

Для моделирования острого воспаления использовали стандартный «формалиновый тест», являющийся классической моделью определения эффективности противовоспалительного действия фармакологических препаратов и физиотерапевтических факторов [13, 14]. Инъекцию формалина (1%) осуществляли в тыльную поверхность стопы задней лапы в объеме 0,2 мл.

После этого животных разделили на 7 групп по 20 крыс в каждой. Исследуемые вещества (АСК, АСЦ, СК, СЦ) вводили экспериментальным группам животных внутривентриально за 30 мин до тестирования в объеме 0,2-0,25 мл в дозе 40 мг/кг. Группой плацебо служили животные, которым вместо тестируемых веществ на фоне воспаления вводили физиологический раствор в идентичных пропорциях. Также для сравнения противовоспалительной активности новых препаратов двум контрольным группам мы вводили салициловую (контроль № 1) и ацетилсалициловую кислоты (контроль № 2) соответственно, которые являются классическими противовоспалительными средствами. Измерения размера отека конечности начинали через 30 мин после введения вещества и осуществляли их с интервалом 12 мин в течение 96 мин. Эффективность противовоспалительного действия определялась классически: по уменьшению отека. Таким образом, более его выразительное уменьшение свидетельствует о большей терапевтической эффективности препарата.

Полученные данные обрабатывали с помощью непараметрического метода Манна-Уитни. Для наглядности результаты представлены в относительных единицах (%), где норму (исходный диаметр конечности) принимали за 100%.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Анализ полученных данных показал, что все протестированные вещества обладали противовоспалительной активностью. Экспериментальные данные сравнивались со значениями, полученными в контрольной группе. Причем

динамика уменьшения опухоли была более выраженной у экспериментальных групп. Однако выраженный противовоспалительный эффект данных веществ проявлялся только во второй половине эксперимента (после 60 мин). Необходимо отметить, что у животных, которым вводились исследуемые вещества, к концу эксперимента (126 мин) размеры и цвет поврежденной лапы практически во всех случаях возвращались в исходное состояние. Такого не наблюдалось у контрольной группы: оставалось покраснение, размеры лапы отличались от исходных.

#### **Противовоспалительная активность ацетилсалицилатов**

На Рис.1 представлены данные изменения размера отека конечности крыс при системном введении животным АСЦ и АСК. Из графика видно, что АСЦ до 66 мин эксперимента не проявлял ярко выраженной противовоспалительной активности. Но, уже начиная с этого времени нами был обнаружен противовоспалительный эффект АСЦ, который выражался в уменьшении размера лап у животных. Так, диаметр опухшей конечности крысы уменьшался более выражено, чем в контрольной группе: на 66 мин на 9%, на 78 мин – 10%, на 90 мин – 14%, на 102 мин – 16%, на 114 мин – 14 % и на 126 мин – 16% соответственно. Нужно отметить, что размер конечностей у лабораторных животных практически возвращался в норму к концу эксперимента, а также отмечено исчезновение признаки гиперемии. Чего не наблюдалось у контрольной группы: оставалось покраснение, размеры лапы отличались от исходных.

Касательно АСК отмечено, что уменьшение диаметра опухшей лапы происходило значительно быстрее, чем в контрольной группе (рис. 1, А). Однако противовоспалительная активность АСК была отмечена намного позже, чем у АСЦ. Только со 102 мин эксперимента наблюдается выраженное уменьшение диаметра лапы. По сравнению с контрольными значениями АСК вызывал достоверное уменьшение размера отека лапы: на 102 мин на 2%, на 114 мин – 1% и на 126 мин – 5% соответственно. Также следует указать, что в конце измерений (на 126 мин) конечности животных приобретали нормальный и цвет, но размер не достигал нормы.

#### **Противовоспалительная активность салицилатов**

Анализ данных эксперимента показал, что протестированные комплексные соли салициловой кислоты (СЦ, СК) способствуют уменьшению отека конечности у крыс, то есть обладают противовоспалительной активностью. В отличие от солей ацетилсалициловой кислоты, здесь большее влияние на воспаление оказывает соединение кобальта с кислотой.

Различие в действии вещества проявляется уже на 42 мин опыта (рис. 2). Однако ярко выраженное уменьшение диаметра лапы по сравнению с значениями группы плацебо обнаружено только с 90 мин эксперимента. У группы крыс, которым вводился СК, размер поврежденной лапы достоверно уменьшался по сравнению с плацебо на 90 мин на 4%, на 102 мин – 13%, на 114 мин – 13,6% и на 126 мин – 13% соответственно. Необходимо отметить, что к концу времени измерений размер лап практически возвращается в норму. Такого не наблюдается у животных, которым инъецировали СЦ.

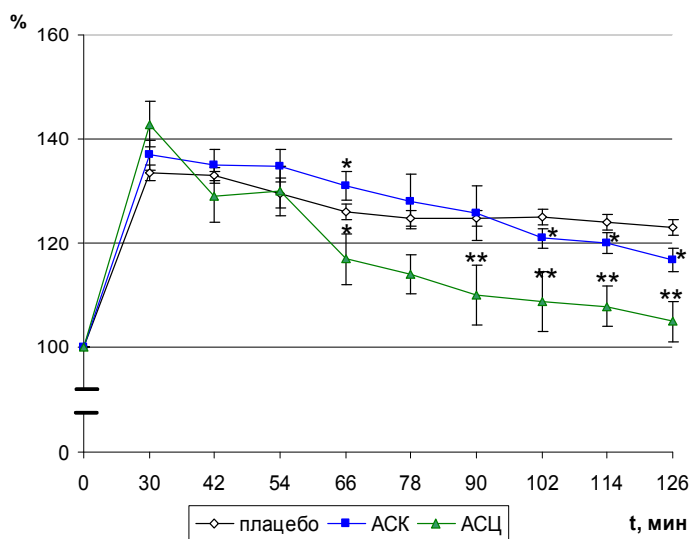


Рис. 1. Противовоспалительная активность ацетилсалицилатов

Примечание: АСК – ацетилсалицилат кобальта, АСЦ – ацетилсалицилат цинка, 100% - норма (исходный диаметр конечности); \* -  $p \leq 0,05$ , \*\* -  $p \leq 0,01$  относительно пlaceбо

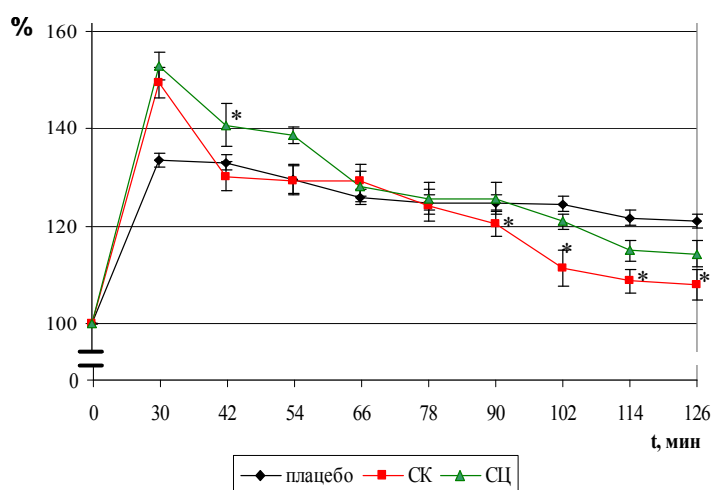


Рис. 2. Противовоспалительная активность салицилатов

Примечание: СК – салицилат кобальта, СЦ – салицилат цинка, 100% - норма (исходный диаметр конечности); \* -  $p \leq 0,05$  относительно пlaceбо

Динамика противовоспалительной активности СЦ сходна с действием СК, однако обнаруженные изменения размера отека конечности были менее выражены по сравнению с эффектами СК. В результате, обнаружено, что СЦ обладает меньшей противовоспалительной активностью, чем все протестированные нами вещества.

### Сравнение противовоспалительной активности салицилата кобальта и ацетилсалицилата цинка с аспирином

В связи с тем, что новосинтезированные соединения являются производными салициловой и ацетилсалициловой кислот, необходимо сравнить их действие с противовоспалительной активностью тестируемых. При этом особое внимание стоит уделить противовоспалительному действию ацетилсалициловой кислоты, так как она является самым эффективным противовоспалительным средством в группе салицилатов. Полученные данные свидетельствуют о том, что из новосинтезированных производных ацетилсалициловой кислоты наиболее эффективным был отмечен АСЦ, а из солей салициловой кислоты – СК.

На Рис. 3 представлены данные сравнения противовоспалительной активности АСЦ и СК с контролем №1 (салициловая кислота) и контролем №2 (аспирин).

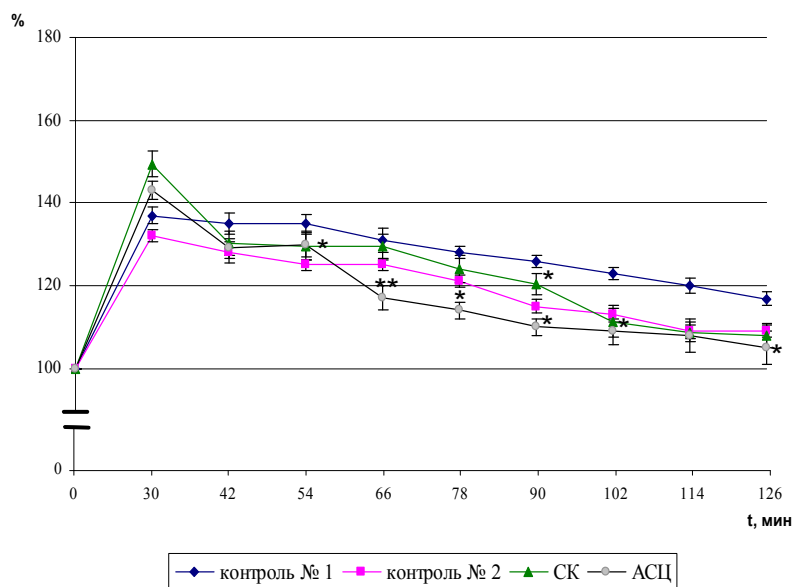


Рис. 3. Противовоспалительная активность салицилата кобальта и ацетилсалицилата цинка с салициловой (контроль № 1) и ацетилсалициловой (контроль № 2) кислотами

Примечание: СК- салицилат кобальта, АСЦ –ацетилсалицилат цинка, 100% - норма (исходный диаметр конечности); \*\* -  $p \leq 0,01$ , \* -  $p \leq 0,05$ , относительно контроля № 2.

В результате на графике видно, что начиная с 54 мин экспериментальных замеров, АСЦ и СК оказывают противовоспалительное действие, уменьшая диаметр опухшей конечности животных. Однако с 78 мин по 102 АСЦ оказывает наиболее выраженное действие и на 114 мин у обоих веществ вновь наблюдается уменьшение диаметра воспаленных лап у крыс на одном уровне. Следовательно, АСЦ более эффективное противовоспалительное средство, чем СК. Касательно салициловой



кислоты, для нее отмечена наименьшая противовоспалительная активность по сравнению с другими соединениями.

Таким образом, в результате сравнения противовоспалительного действия ацетилсалициловой кислоты с ее производными, обнаружено, что все исследованные вещества по своей противовоспалительной активности близки к ацетилсалициловой кислоте, при этом ацетилсалицилат цинка даже превосходит ацетилсалициловую кислоту. Следовательно, можно предположить, что механизм действия ацетилсалицилата цинка также осуществляется путем ингибирования ферментативной активности циклооксигеназ, однако АСЦ может блокировать работу активного центра циклооксигеназы как и «Со-аспирин» [11], однако эта активность будет иметь другое происхождение и, возможно, с меньшим спектром побочного действия.

### ВЫВОДЫ

1. Соли аспирина – ацетилсалицилат цинка и кобальта обладают противовоспалительным эффектом, при этом ацетилсалицилат цинка является более эффективным противовоспалительным средством по сравнению с ацетилсалицилатом кобальта и ацетилсалициловой кислотой.
2. Соли салициловой кислоты – салицилат цинка и салицилат кобальта оказывают противовоспалительное действие, при этом действие салицилат кобальта превосходит таковое салицилата цинка и салициловой кислоты.
3. Ацетилсалицилат цинка является более эффективным антифлогистическим средством, чем все исследуемые соединения в данной работе.

### Список литературы

1. Дзяк Г. В. Нестероидные противовоспалительные препараты / Дзяк Г. В., Викторов А. П., Гришина Е. И. – Киев : МОРИОН, 1999. – 112 с.
2. Зупанец И. А. Современные подходы к клиническому выбору НПВС и ненаркотических анальгетиков / И. А. Зупанец // Журнал практического врача. – 1998. – № 3. – С. 51–52.
3. Викторов А. П. Селективная ингибиция изоформ циклооксигеназы: новый подход к изысканию эффективных и безопасных нестероидных противовоспалительных препаратов / А. П. Викторов // Аптека. – 1997. – Т. 106, № 35. – С. 4.
4. Григорьева А. С. Оптимизация фармакотерапевтической активности биометаллов при комплексообразовании с НПВП / А. С. Григорьева // Микроэлементы в медицине. – 2000. – Т. 2, №1 – С. 17-22.
5. Sodium naproxen: concentration and effect on inflammatory response mediators in human rheumatoid synovial fluid. / P. Bertin, F. Lapique, E. Payan [et al] // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 1994; 46: 3-7.
6. Абелев Г. И. Воспаление / Г. И. Абелев // Соросовский Образовательный Журнал. – 1996. – № 10. – С. 28–32.
7. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов / [Сигидин Я. А., Шварц Г. Я., Арзамасцев А. П., Либерман С.С.]. – Москва: Медицина, 1988. – 240 с.
8. Гринько А. В. Нестероидные противовоспалительные препараты и желудочно-кишечный тракт / А. В. Гринько, Ю. В. Муравьев // Рус. мед. журн. – 1998. – Т. 6, № 13 – С. 829-831.
9. Chan F. K. Celecoxib versus diclofenac and omeprazole in reducing the risk of recurrent ulcer bleeding in patients with arthritis. / F. K. Chan // N. Engl. J. Med. – 2002. – V. 347. – P. 2104-2110.

10. Dahlen B. Celecoxib in patients with asthma and aspirin intolerance / B. Dahlen // N. Engl. J. Med. – 2001. – V. 344. – P. 142.
11. Mogilevskaya E., Demin O., Goryanin I. Kinetic model of mitochondrial krebs cycle: unraveling the mechanism of salicylate hepatotoxic effects / E. Mogilevskaya, O. Demin, I. Goryanin // Journal of Biological Physics. – 2006. - V. 32, № 3-4. – P. 245-271.
12. Пат. 1793578 Российская Федерация. Способ получения веществ, обладающих противовоспалительным действием / Буркова В.Н., Саратиков А.С., Писарева С.И. и др. БИ; заявл. 1993; опубл. 1996, Бюл. № 27.
13. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Хабриев Р. У. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
14. Dubuisson D. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats / D. Dubuisson, S.G. Dennis // Pain. – 1997. – V. 4. – P. 161-164.

**Яковчук Т.В. Протизапальна активність саліцилової і ацетилсаліцилової кислот та їхніх солей / Т.В. Яковчук, О.В. Катюшина, Д.Р. Хусаинов, І.І. Коренюк, Т.В. Гамма, І.В. Черетаєв, О.І. Колотилова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 332-338.**

У роботі за допомогою «формаліновою тесту» показано наявність протизапальної активності ацетилсаліцилатов кобальту (АСК) і цинку (АСЦ) та саліцилатів кобальту (СК) і цинку (СЦ). При цьому АСЦ виявився більш ефективним протизапальним засобом, ніж аспірин, який є класичним протизапальним препаратом.

**Ключові слова:** аспірин, саліцилат кобальту, саліцилат цинку, ацетилсаліцилат кобальту, ацетилсаліцилат цинку, «формаліновий тест».

**Jakovchuk T.V. Anti-inflammatory activity of salicylic and acetylsalicylic acids and its salts / T.V. Jakovchuk, O.V. Katjushina, D.R. Husainov, I.I. Korenjuk, T.V. Gamma, I.V. Cheretayev, O.I. Kolotilova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 332-338.**

In job with the "formalin test" are showed the presence of anti-inflammatory activity acetylsalicylates of cobalt (ASA) and zinc (ASC) and salicylates of cobalt (SK) and zinc (SZ). In this case, ASC was more effective anti-inflammatory agent than aspirin, that is a reference anti-inflammatory drug.

**Keywords:** aspirin, salicylate of cobalt, salicylate of zinc, acetylsalicylate of cobalt, acetylsalicylate of zinc, "formalin test".

*Поступила в редакцію 22.05.2011 г.*

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского  
Серия «Биология, химия». Том 24 (63). 2011. № 2. С. 339-346.

УДК 615.281 + 547.787.1

## БОРНЫЕ КИСЛОТЫ В РЕАКЦИЯХ КОНДЕНСАЦИИ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ С АРОМАТИЧЕСКИМИ АМИНАМИ

*Баевский А.М.<sup>1</sup>, Цикалов В.В.<sup>1</sup>, Баевский М.Ю.<sup>1</sup>, Шелудько А.Б.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина*

<sup>2</sup>*ОАО КНПО Иодобром, Саки, Украина*

*E-mail: b\_m\_y@mail.ru*

Изучена реакция конденсации карбоновых кислот с ароматическими аминами в присутствии борных кислот. Показана высокая эффективность метаборной кислоты как конденсирующего агента. Синтезирован широкий спектр производных бензимидазола и 2-аминоалкилбензимидазола. Строение синтезированных соединений подтверждено методами ПМР-спектроскопии.

**Ключевые слова:** анилин, карбоновая кислота, фенилендиамин, метаборная кислота, конденсация, ацилирование, бензимидазол.

### ВВЕДЕНИЕ

Основным способом получения бензимидазольного цикла является конденсация *o*-фенилендиамина с карбоновыми кислотами и их производными. Конденсация протекает, как правило, в присутствии кислот – соляной, фосфорной и серной. В зависимости от строения карбоновых кислот условия конденсации меняются в широких пределах – от кипячения в 10% соляной кислоте для низших карбоновых кислот, – до нагревания при 250 °С в полифосфорной кислоте для арилкарбоновых кислот [1, 2]. Все эти методы имеют ряд недостатков, к которым относятся – длительность процесса в случае конденсации с аминокислотами, а так же относительно жесткие условия реакции в случае ароматических кислот. Вполне очевидно, что неорганические кислоты, используемые во всех вышеприведенных методах, играют роль конденсирующего агента. В ряде статей было показано, что в данной роли можно использовать и борную кислоту [3–6]. Все описанные реакции проводились при температуре кипения растворителей, кипящих выше 100 °С. Либо при сплавлении реакционной смеси при температуре 180 °С. В то же время из свойств борной кислоты следует, что при температуре выше 108 °С борная кислота теряет молекулу воды, превращаясь в метаборную. И естественно было предположить, что основную роль в процессе конденсации играет метаборная кислота. С этой целью нами были изучены также реакция ацилирования

ароматических аминов и диаминов карбоновыми кислотами в присутствии метаборной кислоты.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Жидкостной хроматограф "Shimadzu LC-20", длина волны 254 нм, колонка длиной 150 мм, диаметром 4,6мм, заполненная Reprosil-Pur-C18-AQ. 5 микр. Подвижная фаза – смесь метанол (700 мл) и раствор 1,67 г/л  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (300 мл), скорость потока 1 мл/мин, растворитель метанол.

Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР получены на приборе Varian VXR-300 (300 МГц), внутренний стандарт -  $\text{Me}_4\text{Si}$ . Приведены химические сдвиги ( $\delta$ -шкала)

***N*-пропиониланилид (I)** К 9,3 г (0,1 моль) анилина в 50 мл толуола добавляют 8,1 г (0,11 моль) пропионовой кислоты и 6,2 г (0,1 моль) борной кислоты (4,4 г метаборной). Нагревают до кипения в колбе снабженной насадкой Дина-Старка и обратным холодильником в течение 2-х часов. По окончании реакции реакцию массу охлаждают. Тoluол удаляют отгонкой на роторном испарителе. Сухой остаток промывают содовым раствором, отфильтровывают и перекристаллизовывают из 50% водного этанола. Выход – 13,6 г (84% в случае метаборной кислоты см. таблицу 1).

**2-этилбензимидазол. А) Синтез в присутствии борной кислоты.** В плоскодонную колбу загружают 0,2 моль борной кислоты, 0,2 моль *o*-фенилендиамина (ОФДА) и 0,21 моль пропионовой кислоты добавляют 10 мл толуола. Подсоединяют насадку Дина-Старка и нагревают колбу до температуры кипения толуола (110 °С). Полнота прохождения реакции определяется по объему выделившейся в насадке воды. По окончании реакции реакционная масса охлаждается. Осадок отфильтровывается на воронке Бунзена, промывается бензолом. Сушится в сушильном шкафу при температуре 80 °С. После чего отмывается горячим 10% раствором NaOH, затем промывается кипятком до нейтральной реакции по универсальной индикаторной бумаге. Полученное соединение кристаллизуют из 40% этанола.

#### **Б) Синтез в присутствии метаборной кислоты.**

Б-1) В плоскодонную колбу загружают 0,1 моль борной кислоты, добавляют 100 мл толуола. Подсоединяют насадку Дина-Старка и нагревают колбу до температуры кипения толуола (110 °С). После выделения 0,1 моля воды, реакционную массу охлаждают до 90°С, после чего в колбу добавляют 0,2 моль *o*-фенилендиамина и 0,2 моль пропионовой кислоты. Подсоединяют насадку Дина-Старка и доводят реакционную массу до кипения. Полнота прохождения реакции определяется по объему выделившейся в насадке воды.

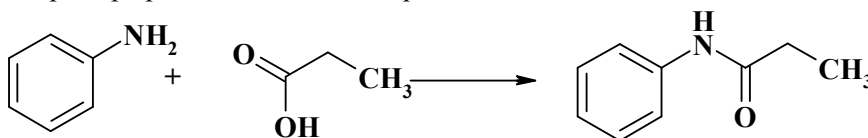
Б-2). В плоскодонную колбу загружают 0,2 моль предварительно полученной в сушильном шкафу метаборной кислоты, 0,2 моль *o*-фенилендиамина и 0,2 моль пропионовой кислоты добавляют 100 мл *o*-ксилола. Подсоединяют насадку Дина-Старка и доводят реакционную массу до кипения. Полнота прохождения реакции определяется по объему выделившейся в насадке воды. Выделение полученного продукта проводилось по выше упомянутой методике.

**Производные 2-фенилбензимидазола.** В стеклянном стакане смешивают 21,6 г (0,2 моль) *o*-фенилендиамин, и 0,21 моль) соответствующей ароматической карбоновой кислоты, 8,8 г (0,2 моль) метаборной кислоты, нагревают до 150 °С в течение часа. Контроль за ходом реакции ведут методом тонкослойной хроматографии. По окончании реакции реакционную смесь охлаждают до 80 °С. Заливают 100 мл горячего раствора 10% аммиака (около 90 °С), нагревают до кипения. Фильтруют. Полученные соединения перекристаллизовывают из этанола или пропанола-2, в зависимости от строения.

**2-Аминоалкилбензимидазол.** В стеклянном стакане смешивают 21,6 г (0,2 моль) *o*-фенилендиамин, 23,5 г (0,21 моль) гидрохлорида соответствующей аминокислоты, 4,4 г (0,2 моль) метаборной кислоты, нагревают до 140 °С в течение часа. Контроль за ходом реакции ведут методом тонкослойной хроматографии. По окончании реакции реакционную смесь охлаждают до 80 °С. Заливают 150 мл горячего раствора 10% соляной кислоты (около 90 °С), нагревают до кипения. Отгоняют на ротаторном испарителе воду с избытком соляной кислоты. Перекристаллизовывают целевой бензимидазол в виде дигидрохлорида из этанола

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Реакция ацилирования в присутствии метаборной и борной кислот была изучена на примере реакции анилина с пропионовой кислотой.



Реакция проводилась в среде толуола при температуре кипения в течение 2-х часов при различных концентрациях борных кислот. Реакционная масса анализировалась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Таблица 1  
Зависимость выхода пропиониланилида от концентрации борных кислот

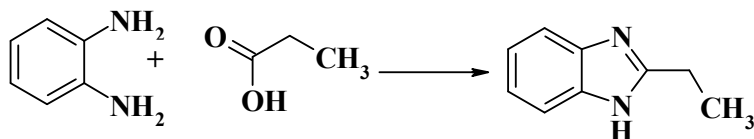
пропиониламид	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> , ср. %	S	HBO <sub>2</sub> , ср. %	S	коэфф.
1:1	64,14	1,243	84,38	0,723	1,33
1:2	63,64	1,040	80,73	0,337	1,28
1:4	48,23	1,903	59,82	0,706	1,26
1:8	42,91	0,725	55,87	0,891	1,28
1:20	42,97	0,734	52,58	0,705	1,19

где S - Среднеквадратическая погрешность,  $S = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$

коэфф.= HBO<sub>2</sub>, ср. % : H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, ср. %

В результате исследований показали, что выход пропиониланилида в случае конденсации в присутствии метаборной кислоты примерно в 1,2-1,3 выше, чем в присутствии борной во всем интервале изученных концентраций.

Реакция конденсации *o*-фенилендиамин с карбоновыми кислотами изучалась на примере пропионовой кислоты.



Реакция проводилась в среде кипящего толуола в течение 2-х часов при различных концентрациях конденсирующего агента. Реакционная масса анализировалась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. (табл. 2).

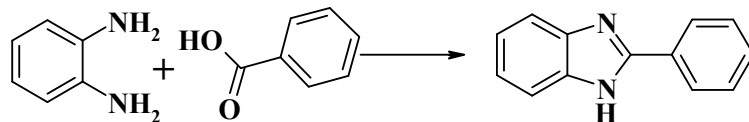
**Таблица 2**  
**Зависимость выхода продуктов реакции от концентрации метаборной кислоты**

Соотношение НВО <sub>2</sub> : ОФДА	Время	2- этилбензимидазол		2-аминофенил- пропиониламид	
		средний выход %	S	средний выход %	S
1x1	120 мин	98,17	0,397	0,8867	0,004
1x2	120 мин	99,50	0,402	0,8067	0,003
1x4	120 мин	87,97	0,355	1,5733	0,006
1x10	120 мин	65,10	0,263	8,9067	0,036
<b>Зависимость выхода продуктов реакции от времени реакции</b>					
1x2	120 мин	99,50	0,402	0,8067	0,003
1x2	90 мин	87,47	0,354	1,3467	0,005
1x2	60 мин	75,60	0,306	2,6200	0,011
1x2	45 мин	65,10	0,263	3,4433	0,014
1x2	30 мин	34,40	0,139	4,2100	0,017
1x2	15 мин	12,37	0,050	2,7200	0,011

Вполне очевидно, что в случае синтеза 2-этилбензимидазола оптимальным соотношением является – 1 моль метаборной кислоты на 2 моля *o*-фенилендиамина. В ходе исследований так же было установлено, что одним из побочных продуктов реакции является N-(2-аминофенил)пропиониламид, концентрация которого в ходе синтеза меняется незначительно, проходя через небольшой максимум на начальных стадиях реакции. С целью выяснения элементов механизма реакции нами был синтезирован N-(2-аминофенил)пропиониламид, который в дальнейшем нагревался в присутствии метаборной кислоты в толуоле в течение 2-х часов. При этом ни методами ВЖХ, ни методами тонкослойной хроматографии 2-этилбензимидазол в

реакционной массе обнаружен не был. То есть в образовании бензимидазольной структуры стадия образования соответствующий анилида в индивидуальном виде существенной роли не играет, в отличие от реакции в 4N соляной кислоте, при кипячении в которой N-(2-аминофенил)пропиониламида в течение 2-х часов был получен соответствующий бензимидазол с выходом около 50%.

Аналогичные результаты были получены и в случае конденсации бензойной кислоты с *o*-фенилендиамином. В связи с тем, что бензойные кислоты, как правило требуют более жестких условий при конденсации с *o*-арилендиаминами, реакция изучалась в растворе *o*-ксилола, при температуре кипения растворителя (144 °С) в течение двух часов (табл. 3).



**Таблица 3**

**Зависимость выхода продуктов реакции от концентрации метаборной кислоты**

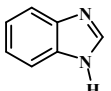
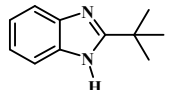
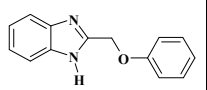
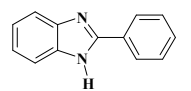
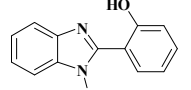
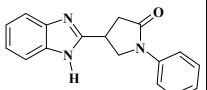
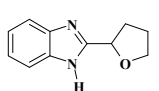
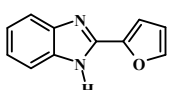
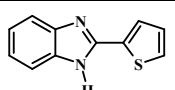
Соотношение НВО <sub>2</sub> : ОФДА	Время	2-фенилбензимидазол		2-аминофенилбензамид	
		средний выход, %	S	средний выход, %	S
1:1	120 мин	42,98	2,473	5,04	0,279
1:2	120 мин	43,83	1,851	3,81	0,299
1:4	120 мин	39,67	1,344	4,19	0,228
1:10	120 мин	17,44	2,497	6,99	0,256
Зависимость выхода продуктов реакции от времени реакции					
1:2	120 мин	43,83	1,851	3,81	0,299
1:2	90 мин	38,18	1,252	3,19	0,151
1:2	60 мин	31,72	2,439	2,91	0,137
1:2	45 мин	26,22	1,492	2,61	0,231
1:2	30 мин	13,64	0,903	1,65	0,121
1:2	15 мин	3,51	1,892	0,78	0,115

С целью выбора оптимальных условий было проведен сравнительный синтез ряда бензимидазолов, представленных в Таблице 4, в различных условиях.

Вполне очевидно, что использование метаборной кислоты в качестве конденсирующего агента позволяют синтезировать широкий спектр производных бензимидазола с более высокими выходами при более коротком времени синтеза и в более мягких условиях. Что в конечном итоге облегчает процесс выделения целевого соединения.

Таблица 4

Сравнительный анализ различных методик синтеза  
2-замещенных производных бензимидазола

	Метод Филлипса		Полифосфорная кислота		Метаборная кислота в растворителе		Метаборная кислота сплавнение 150 °С		Сплавление без борной кислоты 150 °С
	Время	Выход %	Время	Выход %	Время, растворитель,	Выход %	Время мин	Выход %	Выход %
	4 часа	85	-	-	-	-	45	96	37 %
	4 часа	67	-	-	2 часа, толуол	98	45	97	28 %
	4 часа	39	4 часа 240°С	54	3 часа, ксилол	75	90	78	0
	-	0	4 часа 240°С	81	ксилон, 2 часа	83	130	94	0
	-	0	4 часа, 240°С	29	4 часа ксилон	78	90	87	0
	-	0	-	-	2 часа, толуол	62	120	85	27
	4 часа	55	-	-	2 часа, толуол	83	-	-	0
	4 часа	47	-	-	2 часа, ксилон	87	-	-	0
	4 часа	24	-	-	2 часа, ксилон	79			0

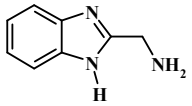
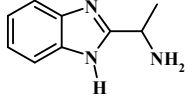
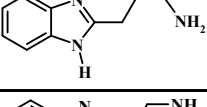
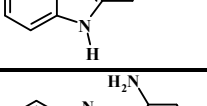
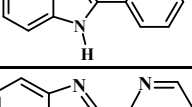
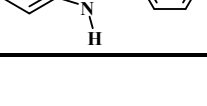
Попытки конденсации *o*-фенилендиаминa с различными аминокислотами и азотсодержащими гетероциклическими карбоновыми кислотами в предлагаемых



выше условиях, как правило, приводили к образованию продуктов осмоления, в которых методом ТСХ были идентифицированы лишь следы бензимидазолов. Как известно из литературных данных  $\alpha$ -аминоалкилбензимидазолы образуются с относительно низкими выходами в результате длительного кипячения *o*-фенилендиамин с  $\alpha$ -аминокислотами в соляной кислоте [1]. Другим путем получения данных производных является конденсация соответствующих амидных производных аминокислот с *o*-фенилендиамином, однако в большинстве случаев параллельно с конденсацией с целевой аминокислотой, протекает конкурирующая реакция переамидирования и образуется бензимидазольное производное на основе ацильного компонента амида аминокислоты. Применение метаборной кислоты в процессе сплавления *o*-фенилендиамин с хлористоводородной солью соответствующей аминокислоты, позволяет синтезировать целевые бензимидазолы с приемлемыми выходами за более короткое время (табл. 5).

Таблица 5

Сравнительный анализ различных методик синтеза производных 2-аминоалкилбензимидазолов

	Метод Филлипса		Метаборная кислота сплавление 140 °С	
	Время	Выход %	Время	Выход %
	30 часов	56	2 часа	78
	72 часа	42	2 часа	69
	-	-	2 часа	85
	24	68	2 часа	83
	-	-	3 часа	68
	-	-	3 часа	78

## ВЫВОДЫ

1. Изучен процесс ацилирования анилина пропионовой кислотой в присутствии борной и метаборной кислот, в кипящем толуоле. Показана высокая эффективность метаборной кислоты в роли конденсирующего агента.
2. Разработан метод синтеза производных бензимидазола в присутствии метаборной кислоты сплавлением *o*-фенилендиамин с соответствующими карбоновыми кислотами позволяющий синтезировать широкий спектр 2-замещенных бензимидазолов. Показаны границы применимости метода.
3. Предложена методика синтеза 2-аминоалкил(арил)бензимидазолов сплавлением гидрохлоридов аминокислот с *o*-фенилендиамином, позволяющая значительно сократить время синтеза по сравнению со стандартными методиками.

## Список литературы

1. Пожарский А.Ф. Успехи химии имидазолов / Пожарский А.Ф., Симонов А.М., Тарновский А.Д. // Успехи химии. – 1966. – Т.35. – № 2. – С.271-285
2. Grimmett M.R. Imidazole and benzimidazole synthesis / Grimmett M.R. // 1997. Academic Press -P. 63-103
3. Pingwah Tang. Organic Syntheses Boric acid catalyzed amide formation from carboxylic acids and amines: N-benzyl-4-phenylbutyramide // Organic Syntheses. – 2005. - Vol. 81 - P.262
4. Краюшкин М.М. Синтез и фотохромные свойства 1,2-бис(2-метил-5-бензоксазол-2-илтиен-3-ил)-гексафторциклопентена / Краюшкин М.М., Стоянович Ф.М., Золотарская // Известия АН России, сер. Химическая. – 1999. – № 5. – С. 1011-1013
5. Постовский И. Я. Исследования в ряду бензозолов. I. Синтезы бензоксазолов с целью изучения их сцинтилляционных свойств / Постовский И. Я., Пушкина Л. Н., Мазалов С. А. // ЖОХ. - 1962. - т. 32 – С. 2617-2624
6. Постовский И. Я. Исследования в ряду бензозолов. II. Синтезы бензимидазолов с целью изучения их сцинтилляционных свойств / Постовский И. Я., Пушкина Л. Н., Мазалов С. А. // ЖОХ. - 1962. - т. 32 – С. 2624-2633

**Баєвський А.М. Борні кислоти в реакціях конденсації карбонових кислот з *o*-фенілендіаміном / А.М. Баєвський, М.Ю. Баєвський, В.В. Цикалов, А.Б.Шелудько // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 339-346.**

Вивчена реакція конденсації карбонових кислот з ароматичними амінами у присутності борних кислот. Показана висока ефективність метаборної кислоти як конденсуючого агенту. Синтезовано ряд похідних бензимидазолу та 2-аміноалкілвмістних похідних бензимидазолу. Будова синтезованих сполук підтверджена методами ПМР-спектроскопії.

**Ключові слова:** анілін, карбонова кислота, фенілендіамін, метаборна кислота, конденсація, ацилювання, бензимидазол.

**Baevsky A.M. Boric acid-s in reactions of condensation of carboxylic acids of *o*-phenylenediamine / A.M. Baevsky, V.V. Tsykalov, M.Y. Baevsky, A.B.Shelud'ko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 339-346.**

The reaction of condensation of carboxylic acids with aromatic amines in the presence of boric acid is studied. The high efficiency metaboric acid as condensing agent. Synthesized a wide range of derivatives of benzimidazole and 2-aminoalkylbenzimidazoles. The structure of the synthesized compounds was confirmed by NMR spectroscopy.

**Keywords:** aniline, carboxylic acid, phenylenediamine, metaboric acid, condensation, acylation, benzimidazole.

*Поступила в редакцію 17.05.2011 г.*

УДК 539.193

## ОЦЕНКА ЭНЕРГИИ ЦИС-ТРАНС-ПЕРЕХОДА В 2-НИТРОФЕНОЛЕ

Валиев Э.В., Шейх-Заде М.И.

РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина  
E-mail: envvaliev@rambler.ru

Изучены ИК спектры растворов 2-нитрофенола и комплексов 2-нитрофенола с акцепторами протона в  $CCl_4$  в области валентных колебаний OH- и  $NO_2$ - групп в интервале температур 22–72°C. Получены значения изменения энтальпии при образовании комплексов с межмолекулярной водородной связью в *транс*-форме 2-нитрофенола, изменения энтальпии при переходе от *цис*-формы 2-нитрофенола к комплексу с межмолекулярной водородной связью. Сделана оценка энергии *цис-транс*-перехода в 2-нитрофеноле.

**Ключевые слова:** 2-нитрофенол, ИК спектры, *цис*- форма, *транс*- форма, энтальпия, энергия.

### ВВЕДЕНИЕ

Исследования различными методами конформаций молекул и энергетики конформационных переходов ведутся давно. Обзор таких работ можно найти, например, в [1]. Однако недостаточно изученной остается энергетика конформационных переходов в молекулах с сильной внутримолекулярной водородной связью (ВВС). Прямое определение разности энергетических уровней, соответствующих конфигурациям без ВВС (*транс*-форма) и с ВВС (*цис*-форма), под которой будем понимать энергию *цис-транс*-перехода (ЦТП), требует измерения в некотором температурном интервале абсолютной или относительной заселенностей *транс*- и *цис*-форм. Такие измерения можно провести по ИК спектрам поглощения. Прямые измерения энергии ЦТП по ИК спектрам поглощения предполагают наличие в ИК спектре одновременно полос *цис*- и *транс*-форм. Однако в случае веществ с сильной ВВС в ИК спектре наблюдается только полоса *цис*-формы, полосу же *транс*-формы не удается наблюдать ни в обычных, ни в экстремальных (высокая температура) условиях. Примером такого вещества является 2-нитрофенол (2-НФ), которой выбран нами в качестве объекта исследования. В наших экспериментах нагревание раствора 2-НФ в  $CCl_4$  до 75°C не приводило к появлению в ИК спектре полосы *транс*-формы. В работе [2] проводилось исследование ИК спектра 2-НФ в широком интервале температур и было показано, что даже при температурах ~ 200°C, близких к температуре разложения 2-НФ, не удается наблюдать полосу *транс*-формы.

Из сказанного следует, что прямое измерение энергии ЦТП в 2-НФ по ИК спектрам поглощения не представляется возможным. Поэтому целью данной работы являлась оценка энергии ЦТП в 2-НФ по ИК спектрам поглощения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ИК спектры растворов 2-НФ в  $\text{CCl}_4$  регистрировались на спектрофотометре UR-20. Спектральная ширина щели, скорость сканирования, постоянная времени приемно-регистрирующей системы выбирались такими, чтобы свести к минимуму искажающее влияние прибора на спектры. Концентрация 2-НФ варьировалась в интервале 0,3-0,4 моль/л. В качестве акцепторов протона использовались 2,4,6-коллидин и гексаметилфосфотриамид (ГМФТА), концентрация которых составляла 0,7 - 2,5 моль/л. Спектры снимались в термостатируемых кюветах с окнами из  $\text{CaF}_2$  в интервале температур 22 – 72°C. Кюветы помещались в цилиндрические электрические печи длиной 10 см, что обеспечивало достаточную равномерность температуры по длине кюветы. Температура измерялась медь-константановой термопарой с точностью 0,5°C. При обработке результатов вводилась поправка на зависимость плотности раствора от температуры. Толщина слоя раствора выбиралась такой, чтобы оптические плотности в максимуме аналитических полос находились в оптимальной области [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Идея метода оценки энергии ЦТП в 2-НФ основана на том экспериментальном факте, что при добавлении достаточно сильного акцептора протона в раствор соединения с ВВС в инертном растворителе происходит разрыв ВВС и образование комплексов с межмолекулярной водородной связью (МВС), в которых донор протона находится в *транс*-форме. При этом, как можно судить из ИК спектров, образование комплекса с МВС приводит к понижению энергетического уровня *транс*-конфигурации, равновесие между *цис*- и *транс*- формами (в комплексе с МВС) смещается в сторону *транс*-формы, так что концентрации двух конформеров могут стать соизмеримыми. Схематически это показано на Рис. 1 на примере 2-НФ и акцептора протона В-У.

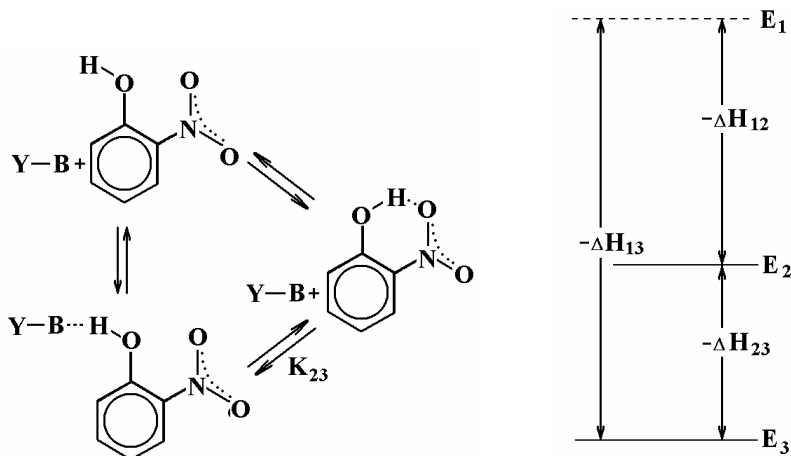


Рис.1. Схема равновесий ВВС  $\rightleftharpoons$  МВС в системе 2-НФ + акцептор протона и энергетические уровни 2-НФ в этих равновесиях.

Уровень энергии  $E_1$  показан пунктиром, так как в ИК спектре 2-НФ не удается наблюдать полос, соответствующих *транс*-форме свободных молекул. На приведенной схеме  $-\Delta H_{13}$  – изменение энтальпии при образовании комплексов с МВС в *транс*-форме 2-НФ (энергия МВС);  $-\Delta H_{12}$  – изменение энтальпии при ЦТП (энергия ЦТП);  $-\Delta H_{23}$  – изменение энтальпии при переходе от *цис*-формы 2-НФ к комплексу с МВС. Если известны  $-\Delta H_{13}$  и  $-\Delta H_{23}$ , то значение  $-\Delta H_{12}$  определяется как их разность.

Значения  $-\Delta H_{23}$  определялись по температурной зависимости константы равновесия  $K_{23}$ :

$$K_{23} = \frac{C_0^a - C^a}{C^a - [C_0^a - (C_0^b - C^a)]},$$

где  $C_0^a$ ,  $C_0^b$  – исходные концентрации 2-НФ и акцептора протона,  $C^a$  – концентрация молекул 2-НФ в *цис*-форме. Для определения  $K_{23}$  достаточно измерить  $C^a$  по той или иной полосе *цис*-формы 2-НФ.

На Рис. 2 показан спектр раствора 2-НФ и системы 2-НФ + ГМФТА в  $CCl_4$  в области  $1300-3700\text{ см}^{-1}$ .

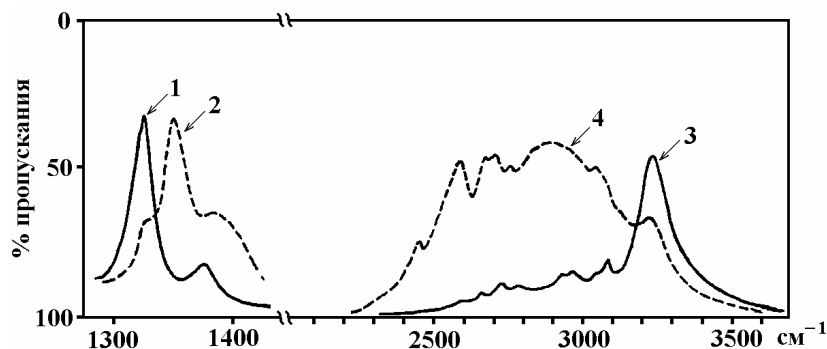


Рис. 2. 2-НФ в  $CCl_4$  (1,3) и 2-НФ + ГМФТА в  $CCl_4$  (2,4).  $C_0^a = 0,292$  (1,3);  $0,321$  (2) и  $0,395$  моль/л (4).  $C_0^b = 2,380$  (2) и  $0,699$  моль/л (4).  $l = 40$  (1),  $50$  (2),  $177$  (3) и  $107$  мкм (4). Температура =  $22^\circ\text{C}$ .

Из Рис. 2 видно, что полоса  $\nu_m \text{OH} \approx 3250\text{ см}^{-1}$  свободных молекул 2-НФ в *цис*-форме имеет большую ширину, отчетливую структуру и на нее накладывается полоса  $\nu \text{OH}$  комплекса с МВС, так что разделение этих полос не может быть проведено с достаточной точностью. Поэтому полоса  $\nu_m \text{OH}$  не может быть использована в качестве аналитической полосы и определение величины  $-\Delta H_{23}$  целесообразнее вести по полосе  $\nu_s \text{NO}_2$   $1327\text{ см}^{-1}$ , которая принадлежит симметричным колебаниям нитрогруппы, включенной в ВВС с гидроксильной группой. При добавлении в раствор 2-НФ в  $CCl_4$  сильного акцептора протона, например, ГМФТА, происходит образование комплексов с МВС  $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{P}$ , что сопровождается разрывом ВВС. При этом интенсивность полосы  $1327\text{ см}^{-1}$  уменьшается и в спектре (рис.2) появляется интенсивная полоса  $1343\text{ см}^{-1}$ , которая, очевидно, принадлежит симметричным колебаниям  $\nu_s \text{NO}_2$  свободной нитрогруппы комплекса с МВС. При повышении температуры раствора интенсивность полос комплекса с МВС уменьшается, а интенсивность полос *цис*-формы 2-НФ

увеличивается. Это означает, что энергетический уровень комплекса с МВС находится ниже уровня, соответствующего *цис*-форме 2-НФ (рис. 1).

Измерения в рабочем интервале температур показали, что полуширина полосы  $1327\text{ см}^{-1}$  не зависит от температуры, а коэффициент поглощения уменьшается с ростом температуры. Поэтому измерения  $\epsilon^a$  проводились по оптической плотности в максимуме этой полосы с учетом температурной зависимости коэффициента поглощения. Значения  $-\Delta H_{23}$ , полученные из графиков зависимостей  $\lg K_{23}$  от  $1/T$ , приведены в таблице.

**Таблица.**

**Спектроскопические и термодинамические характеристики системы  
2-НФ+акцептор протона**

Донор протона	Акцептор протона	$\Gamma \cdot 10^{-4}$ $\text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$	$-\Delta H_{13}$	$-\Delta H_{23}$	$-\Delta H_{12}$
			ккал/моль		
2-НФ	коллидин	5,52	8,6	2,0	6,6
2-НФ	ГМФТА	7,19	10,3	3,4	6,9

Величину  $-\Delta H_{13}$  измерить прямым путем не удастся. Для ее оценки можно воспользоваться корреляционными соотношениями между энергией МВС и спектральными характеристиками комплекса с МВС – изменением интенсивности или сдвигом частоты полосы  $\nu$  ОН в ИК спектре. В данном случае использование сдвига частоты полосы  $\nu$  ОН не представляется перспективным, так как из-за достаточно сильной МВС полоса комплекса становится несимметричной, структурированной и точность измерения сдвига частоты может стать невысокой. Поэтому нами использовано корреляционное соотношение между изменением энтальпии и изменением интенсивности полосы  $\nu$  ОН в ИК спектре, установленном в [4] для широкого круга соединений:  $-\Delta H = 5,3 \cdot (\sqrt{\Gamma} - \sqrt{\Gamma_0})$  где

$$\Gamma = (c \cdot l)^{-1} \cdot \int \ln \left( \frac{I_0}{I} \right) \cdot d(\ln \nu)$$

для полосы комплекса с МВС,  $\Gamma_0$  – то же для полосы

*транс*-формы свободных молекул 2-НФ,  $\epsilon$  – концентрация молекул соответствующей формы 2-НФ. Вместо значения  $\Gamma_0$  полосы *транс*-формы 2-НФ, который в условиях нашего эксперимента невозможно измерить, использовались средние значения  $\Gamma_0$  3-нитро- и 4-нитро-фенолов, приведенных в [5]. Такой произвол в выборе величины  $\Gamma_0$  приводит к дополнительной ошибке в оценке величины  $-\Delta H_{13}$ . О порядке величины этой ошибки можно получить представление, используя по отдельности значения  $\Gamma_0$  для 3-нитро- и 4-нитро-фенолов. Оцененная таким образом дополнительная ошибка для комплексов 2-НФ с коллидином и ГМФТА составляет 0,1 ккал/моль. При расчете значений  $\Gamma$  учитывалось, что часть 2-НФ остается в *цис*-форме. Полученные таким образом значения  $\Gamma$  и  $-\Delta H_{13}$  приведены в Таблице. В этой же таблице приведены полученные значения  $-\Delta H_{12}$ .

Как видно из Таблицы, значения  $-\Delta H_{12}$  для 2-НФ, полученные для двух акцепторов протона находятся в удовлетворительном соответствии между собой. В

работе [6] методом газо-жидкостной хроматографии для энергии ЦТП в 2-НФ было получено значение  $8 \pm 1$  ккал/моль.

Использованный нами метод может быть полезен для оценки энергии ЦТП в соединениях с ВВС средней силы, для которых удастся подобрать несколько акцепторов протона достаточной силы, чтобы можно было наблюдать равновесие между ВВС и МВС.

## ВЫВОД

На основании проведенного исследования можно заключить, что энергия *цис-транс*- перехода в 2-нитрофеноле составляет  $\approx 6,6-6,9$  ккал/моль.

## Список литературы

1. Дашевский В.Г. Конформации органических молекул / В.Г. Дашевский. – М.:Химия, 1975.– 432 с.
2. Румынская И.Г. Влияние температуры и молекулярного окружения на спектральные характеристики и переход протона в некоторых соединениях с внутримолекулярной водородной связью: дисс.... канд. физ-мат. Наук / И.Г. Румынская. – Л., 1982.
3. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия / А. Смит. – М.: Мир, 1982. – 328с.
4. Иогансен А.В. Инфракрасная спектроскопия и спектральное определение энергии водородной связи / А.В. Иогансен // Водородная связь. – М.: Наука, 1981. – С. 112–155.
5. Салимов М.А. Расчет некоторых молекулярных констант у производных фенола / А.М. Салимов, Н.П. Курносова // Научн. Труды Московского лесотехнического института. – 1974. – Вып. 64. – С. 197–202.
6. Скворцов И.М. Метод определения энергии внутримолекулярных водородных связей посредством газо-жидкостной хроматографии / И.М. Скворцов, С.А. Колесников // ЖФХ. – 1973. – Т. 47. – № 4. – С. 785–790.

**Валієв Е.В. Оцінка енергії *цис- транс*- переходу в 2-нітрофенолі / Е.В. Валієв, М.І. Шейх-Задє //** Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 347-351.

Вивчено ІЧ спектри розчинів і комплексів 2-нітрофенолу з акцепторами протонів у  $CCl_4$  в галузі валентних коливань ОН- і  $NO_2$ - груп в інтервалі температур 22-72°C. Отримано значення змінення ентальпії при утворенні комплексів з міжмолекулярним водневим зв'язком в *транс*- формі 2-нітрофенолу, змінення ентальпії при переході від *цис*- форми 2-нітрофенолу до комплексу з міжмолекулярним водневим зв'язком. Зроблено оцінку енергії *цис- транс*- переходу в 2-нітрофенолі.

**Ключові слова:** 2-нітрофенол, ІЧ спектри, *цис*- форма, *транс*- форма, ентальпія, енергія.

**Valiev E.V. Estimation of *cis- trans*- transition energy in 2-nitrophenol / E.V. Valiev, M.I. Sheikh-Zade //** Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 347-351.

IR spectra of 2-nitrophenol and H-complexes of 2-nitrophenol with proton acceptor in  $CCl_4$  solutions in the region of valence vibrations of OH- and  $NO_2$ - groups in the temperature range 22-72°C have been received. The changes of enthalpy under the formation of H-complexes with intermolecular hydrogen bond in the *trans*- form of 2-nitrophenol, the changes of enthalpy in the transforming from the *cis*- forms of 2-nitrophenol to the H-complex with intermolecular hydrogen bond have been received. The estimation of *cis-trans*- transition energy in 2-nitrophenol has been made.

**Keywords:** 2-nitrophenol, IR spectra, *cis*- form, *trans*- form, enthalpy, energy.

Поступила в редакцію 10.06.2011 г.

УДК: 547.792 +546.47+ 579.01

## 5-(2'-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-2-(2'-ПИРИДИЛ)-7,8-БЕНЗО-6,5-ДИГИДРО-1,3,6-ТРИАЗАИНДОЛИЗИНЫ И КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЦИНКА НА ИХ ОСНОВЕ: СИНТЕЗ И ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ

Гусев А.Н.<sup>1</sup>, Шульгин В.Ф.<sup>1</sup>, Постникова О.Н.<sup>2</sup>, Криворутченко Ю.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

<sup>2</sup>Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Украина

E-mail: galex0330@rambler.ru

Синтезированы 5-(2'-гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-бензо-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизины, а также координационные соединения цинка на их основе. Строение соединений установлено методами ИК- и ПМР-спектроскопии. Изучена антифунгальная активность полученных соединений.

**Ключевые слова:** дигидро-1,3,6-триазаиндолизины, координационные соединения, цинк, мирамистин, фунгицидная активность.

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современной медицины является борьба с грибковыми заболеваниями. Среди перспективных фунгицидных препаратов особое место занимают 1,2,4-триазолы и конденсированные системы на их основе, обладающие широким спектром биологической активности [1–6]. Активный поиск новых биологически активных триазолов продолжается и сейчас. Недавно была установлена высокая биологическая активность азометиновых производных 1,2,4-триазола [7] и их координационных соединений [8, 9]. В настоящем сообщении описаны результаты исследования фунгицидной активности продуктов конденсации 2-(5-(2-пиридил)-1,2,4-триазол-3-ил)фениламинов с салициловым альдегидом и координационных соединений цинка на их основе в виде индивидуальных соединений и в комбинации с мирамистином.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез исследуемых соединений проводили на воздухе в очищенном 96%-ном этаноле. Для синтеза использовали салициловый альдегид и дигидрат ацетата цинка квалификации «х.ч.». Синтез 2-(5-(2-пиридил)-1,2,4-триазол-3-ил)фениламинов (**1**) выполнен по ранее описанной методике [10]. ИК-спектры записаны в диапазоне 4000–400 см<sup>-1</sup> на Фурье-спектрофотометре *Nicolet Nexus 470* с использованием стандартной методики прессования образца с KBr. ЯМР-спектры получены на спектрометре *Bruker VXR-400* (400 МГц), внутренний стандарт Me<sub>4</sub>Si, растворитель – ДМСО-d<sub>6</sub>. В биоиспытаниях использовали музейный штамм грибов *Candida*



*albicans* ССМ 885 (типовой). Плотность исходной суспензии грибов -  $5 \times 10^5$  КОЕ в мл. Смеси грибов и изучаемых веществ инкубировали при 37 °С в течение 48 часов. Результат оценивали по появлению мутности в пробирках, что свидетельствовало о росте грибов и по высеву бактериологической петлей на агаризованную среду Сабуро содержимого пробирок, в которых визуальнo не регистрировался рост.

**Синтез 5-(2'-гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-бензо-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизин** (соединения **2,а-е**).

3-(Пиридил-2-ил)-5-(2'-аминофенил)-1Н-1,2,4-триазол (4 ммоль) растворяют в 20 мл горячего 96%-ного этанола при перемешивании на магнитной мешалке. К полученному раствору добавляют 512 мг (4,2 ммоль) салицилового альдегида. Реакционную смесь перемешивают на магнитной мешалке при нагревании в течение часа. Раствор охлаждают, выпавший белый кристаллический осадок отфильтровывают, промывают холодным этанолом, сушат на воздухе, а затем в вакууме.

5-(2'-Гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-бензо-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизин (соединение **2,а**): Выход – 78 %; Т.пл. 237 °С (EtOH); Найдено (%): С 70,22; Н 4,28. Для  $C_{20}H_{15}N_5O$  вычислено (%): С 70,38; Н 4,40. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 10,1 с, (ушир) (ОН), 8,65 д, (1 $H_{аром}$ ), 8,12 д, (1 $H_{аром}$ ), 7,90 д-тр, (1 $H_{аром}$ ), 7,80 д (1 $H_{аром}$ ), 7,40 мульт, (2 $H_{аром}$ ), 7,20 мульт, (2 $H_{аром}$  + (C<sup>2</sup>-Н)), 6,95 мульт, (2 $H_{аром}$  + N-H), 6,85 тр, (1 $H_{аром}$ ), 6,80 т, (1 $H_{аром}$ ). ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ , см<sup>-1</sup>: 3380, 3270, 3056, 1629, 1292, 750.

5-(2'-Гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-(3-метилбензо)-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизин (соединение **2,б**). Выход – 69 %; Т.пл. 209 °С (EtOH). Найдено (%): С 71,09; Н 4,66. Для  $C_{21}H_{17}N_5O$  вычислено (%): С 70,98; Н 4,79. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 10,03 с, (ОН), 8,61 д, (1 $H_{аром}$ ), 8,08 д, (1 $H_{аром}$ ), 7,90 д-тр, (1 $H_{аром}$ ), 7,64 с (1 $H_{аром}$ ), 7,43 д-тр, (1 $H_{аром}$ ), 7,25-7,15 мульт, (H $аром$  + (C<sup>2</sup>-Н)), 7,12-6,95 мульт, (H $аром$  + N-H), 6,91 д, (1 $H_{аром}$ ), 6,86 д, (1 $H_{аром}$ ), 6,81 д, (1 $H_{аром}$ ), 6,73 т, (1 $H_{аром}$ ), 2,27 с (3Н). ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ , см<sup>-1</sup>: 3386, 1630, 1516, 1350, 1290, 750.

5-(2'-Гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-(3-фторбензо)-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизин (соединение **2,с**). Выход – 74 %; Т.пл. 241 °С (EtOH). Найдено (%): С 67,02; Н 3,79. Для  $C_{20}H_{14}FN_5O$  вычислено (%): С 66,85; Н 3,90. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 10,05 с, (ушир) (ОН), 8,61 д, (1 $H_{аром}$ ), 8,07 д, (1 $H_{аром}$ ), 7,89 д-тр, (1 $H_{аром}$ ), 7,54 д-д, (1 $H_{аром}$ ), 7,42 мульт, (1 $H_{аром}$ ), 7,34 с (1 $H_{аром}$ ), 7,20-7,05 мульт, (2 $H_{аром}$  + (C<sup>2</sup>-Н)), 6,95-6,82 мульт, (2 $H_{аром}$  + N-H), 6,75 тр, (1 $H_{аром}$ ). ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ , см<sup>-1</sup>: 3280, 1638, 1522, 1356, 1284, 746.

5-(2'-Гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-(3-хлорбензо)-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизин (соединение **2,д**). Выход – 84 %; Т.пл. 235 °С (EtOH). Найдено (%): С 63,72; Н 3,68. Для  $C_{20}H_{14}ClN_5O$  вычислено (%): С 63,91; Н 3,73. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 10,02 с (ушир) (ОН), 8,60 д, (1 $H_{аром}$ ), 8,08 д, (1 $H_{аром}$ ), 7,89 д-тр, (1 $H_{аром}$ ), 7,72 д (1 $H_{аром}$ ), 7,59 с (1 $H_{аром}$ ), 7,42 мульт, (1 $H_{аром}$ ), 7,28 мульт, (1 $H_{аром}$ ), 7,25-7,15 мульт, (H $аром$  + (C<sup>2</sup>-Н)), 6,96 д (N-H), 6,87 д, (2 $H_{аром}$ ), 6,75 т, (1 $H_{аром}$ ). ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ , см<sup>-1</sup>: 3266, 1626, 1522, 1354, 1282, 752.

5-(2'-Гидроксифенил)-2-(2'-пиридил)-7,8-(3-бромбензо)-6,5-дигидро-1,3,6-триазаиндолизин (соединение **2,е**). Выход – 79 %; Т.пл. 237 °С (EtOH). Найдено (%): С 57,25; Н 3,24, Для  $C_{20}H_{14}BrN_5O$  вычислено (%): С 57,14; Н 3,33. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 10,05 с, (ушир) (ОН), 8,60 д, ( $1H_{аром}$ ), 8,07 д, ( $1H_{аром}$ ), 7,90-7,82 д-тр, ( $2H_{аром}$ ), 7,61 с ( $1H_{аром}$ ), 7,40-7,30 мульт, ( $2H_{аром}$ ), 7,20-7,10 мульт, ( $H_{аром} + (C^2-H)$ ), 6,97 д (N-H), 6,87 д, ( $1H_{аром}$ ), 6,82 д, ( $1H_{аром}$ ), 6,75 т, ( $1H_{аром}$ ). ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ ,  $cm^{-1}$ : 3268, 1626, 1520, 1354, 1284, 752.

### Синтез координационных соединений

К суспензии 2 ммоль соответствующего соединения 2 в 10 мл 96%-ного этанола добавляют 438 мг (2 ммоль) дигидрата ацетата цинка. Полученную реакционную смесь перемешивают на магнитной мешалке при нагревании в течение двух часов. Выпавший осадок оставляют на ночь под маточным раствором, отфильтровывают, промывают спиртом и высушивают на воздухе.

$[Zn_2L_2] \cdot 0,5EtOH$  ( $H_2L$  - 3-(пиридин-2-ил)-5-(2-салицилидениминофенил)-1Н-1,2,4-триазол) (соединение **3,а**). Найдено, %: Zn 15,62; N 16,36. Для  $C_{41}H_{29}N_{10}O_{2,5}Zn_2$  вычислено, %: Zn 15,59; N 16,66. ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ ,  $cm^{-1}$ : 1610 -  $\nu(C=N_{Шифф})$ , 1593, 1533, 1457, 1444, 1330, 1147, 752.

$[Zn_2L_2^1] \cdot 2EtOH$  ( $H_2L^1$  - 3-(пиридин-2-ил)-5-(2-салицилиденимино-4-метилфенил)-1Н-1,2,4-триазол) (соединение **3,б**). Найдено, %: Zn 14,22; N 15,14. Для  $C_{46}H_{42}N_{10}O_4Zn_2$  вычислено, %: Zn 14,10; N 15,07. ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ ,  $cm^{-1}$ : 1608 -  $\nu(C=N_{Шифф})$ , 1534, 1462, 1444, 1378, 1324, 1146, 754.

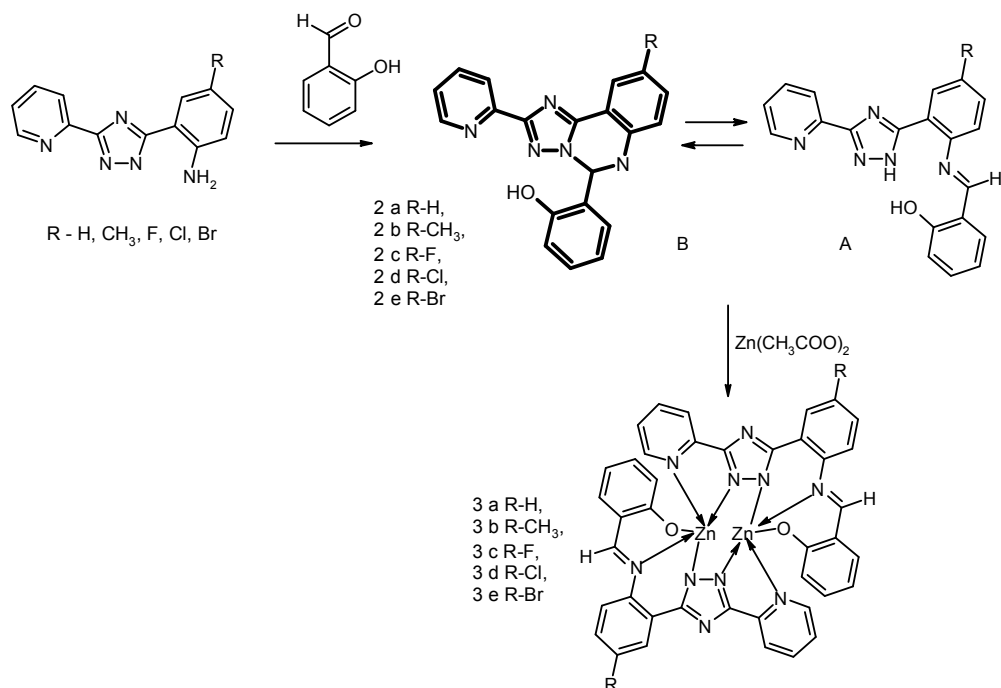
$[Zn_2L_2^2] \cdot EtOH$  ( $H_2L^2$  - 3-(пиридин-2-ил)-5-(2-салицилиденимино-4-фтор-фенил)-1Н-1,2,4-триазол) (соединение **3,с**). Найдено, %: Zn 14,89; N 15,74. Для  $C_{42}H_{30}F_2N_{10}O_3Zn_2$  вычислено, %: Zn 14,70; N 15,71. ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ ,  $cm^{-1}$ : 1610 -  $\nu(C=N_{Шифф})$ , 1534, 1462, 1444, 1324, 1170, 1150, 758.

$[Zn_2L_2^3] \cdot EtOH$  ( $H_2L^3$  - 3-(пиридин-2-ил)-5-(2-салицилиденимино-4-хлор-фенил)-1Н-1,2,4-триазол) (соединение **3,д**). Найдено, %: Zn 14,09; N 15,26. Для  $C_{42}H_{30}Cl_2N_{10}O_3Zn_2$  вычислено, %: Zn 14,18; N 15,15. ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ ,  $cm^{-1}$ : 1610 -  $\nu(C=N_{Шифф})$ , 1532, 1448, 1368, 1326, 1172, 1148, 756.

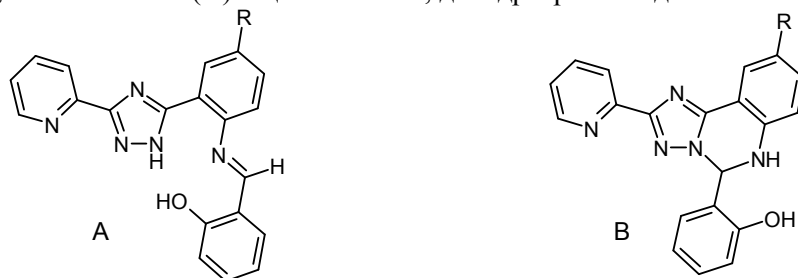
$[Zn_2L_2^4] \cdot EtOH$  ( $H_2L^4$  - 3-(пиридин-2-ил)-5-(2-салицилиденимино-4-бром-фенил)-1Н-1,2,4-триазол) (соединение **3,е**). Найдено, %: Zn 13,15; N 14,01; С 49,79; Н 2,88. Для  $C_{42}H_{30}Br_2N_{10}O_3Zn_2$  вычислено, %: Zn 12,93; N 13,82; С 49,75; Н 2,96. ИК-спектр,  $\bar{\nu}$ ,  $cm^{-1}$ : 1610 -  $\nu(C=N_{Шифф})$ , 1532, 1446, 1366, 1326, 1174, 1148, 756.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез исследуемых соединений был осуществлен взаимодействием салицилового альдегида с 2-(5-(2-пиридил)-1,2,4-триазол-3-ил)фениламинами (соединения **2,а-е**) в 96%-ом этаноле и последующей реакцией с ацетатом цинка (соединения **3,а-е**) (схема):



Продукты конденсации салицилового альдегида с 2-(5-(2-пиридил)-1,2,4-триазол-3-ил)фениламинами могут существовать в двух изомерных формах: линейной, азометиновой (A) и циклической, дигидротриазаиндолизиновой (B).



Результаты исследования соединений **2,a-e** методами ЯМР- и ИК-спектроскопии свидетельствуют о циклической форме соединений. В пользу последней говорит синглетный сигнал протона группы С-Н дигидротриазинового кольца и отсутствие сигнала водорода азометинового фрагмента в спектре ПМР. Реакция соединений **2,a-e** с ацетатом цинка в спиртовом растворе приводит к разрыву триазаиндолизинного цикла и образованию биядерных комплексов с азометиновой формой лиганда. Состав и строение координационных соединений установлены методами элементного и термогравиметрического анализа, а также ИК- и ЯМР-спектрами. Строение комплекса **3,a** было объективно установлено прямым рентгеноструктурным анализом [11].

Антифунгальная активность соединений **2,a-e** и **3,a-e** изучена на музейном штамме грибов *Candida albicans* ССМ 885. Результаты исследований представлены

в Табл. 1. Видимый рост грибов отсутствовал в пробирках, где они инкубировались в присутствии соединений **2,а-с**, а также **3,а** и **3,с**. Минимальная игибирующая концентрация (МИК) для данных соединений составила 500 мкг/мл. Во всех опытах с использованием остальных соединений за время инкубации наблюдался рост грибов. После посева содержимого пробирок, в которых отсутствовал видимый рост микробов, на агаризованную среду Сабуро и инкубации посевов при 37 °С в течение 48 часов, рост грибов отсутствовал в пробах, содержащих соединения **2,а-с**. Эти вещества, растворенные в ДМСО, оказывали фунгицидное действие при МИК 500 мкг/мл. Пробы, содержащие соединения **3,а** и **3,с**, дали рост грибов на агаризованной среде Сабуро. Таким образом, было установлено, что комплексы триазолов обладают умеренным фунгистатическим действием при МИК 500 мкг/мл.

Таблица 1.

Влияние соединений **2,а-е** и **3,а-е** на рост дрожжеподобных грибов *Candida albicans*

Соединение	Концентрации (мкг/мл)		
	500	250	125
ДМСО*	ФС <sup>а</sup>	-	-
<b>2, а</b>	ФЦ <sup>б</sup>	-	-
<b>3, а</b>	ФС	-	-
<b>2, b</b>	ФЦ	-	-
<b>3, b</b>	-	-	-
<b>2, c</b>	ФЦ	-	-
<b>3, c</b>	ФС	-	-
<b>2, d</b>	-	-	-
<b>3, d</b>	-	-	-
<b>2, e</b>	-	-	-
<b>3, e</b>	-	-	-

\* - контроль растворителя

а – фунгистатическое действие, б – фунгицидное действие.

Были поставлены эксперименты по оценке действия триазолов в присутствии субфунгицидных концентраций (менее 30 мкг/мл) катионного детергента мирамистина. Результаты исследования комбинированного действия производных триазола с мирамистином приведены в Табл. 2. Варианты сочетаний производных триазола с мирамистином, не указанные в Табл. 2, не угнетали рост дрожжеподобных грибов. В результате проведенных испытаний было установлено, что соединения **2,а-е** проявляют фунгицидную активность при собственной концентрации 500 мкг/мл и содержании мирамистина в смеси от 2,5 до 22,7 мкг/мл. Фунгистатическое действие при МИК 228-250 мкг/мл и концентрации детергента 11,4 мкг/мл было зарегистрировано для триазолов **2,б-е**. Соединение **2,с** оказывал фунгистатическое действие при МИК 250 мкг/мл и концентрации мирамистина 6,3 мкг/мл. Для цинковых комплексов было установлено, что фунгицидное действие

Таблица 2

Влияние соединений 2,а-е и 3,а-е на рост дрожжеподобных грибов  
*Candida albicans* в присутствии мирамистина

№	Концентрация в смесях (мкг/мл)		Рост грибов после инкубации				
			в пробирке 48 ч	в агаре после высева из пробирок			
триазол	мирамистин			24 ч	48 ч	72 ч	96 ч
<b>2,а</b>	455	22,7	-	- <sup>а</sup>	-	-	-
	500	12,5	-	-	-	-	-
<b>3,а</b>	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	-	-	-
<b>2,б</b>	114	5,7	-	+ <sup>б</sup>	+	+	+
	500	12,5	-	-	-	-	-
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	+	+	+
<b>3,б</b>	500	12,5	-	-	+	+	+
	455	22,7	-	-	-	-	-
	500	12,5	-	+	+	+	+
	500	6,25	-	+	+	+	+
<b>2,с</b>	500	2,5	-	+	+	+	+
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	+	+	+
<b>3,с</b>	500	12,5	-	-	-	-	-
	250	6,3	-	-	+	+	+
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	+	+	+	+
<b>2,д</b>	500	12,5	-	-	+	+	+
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	+	+	+
<b>3,д</b>	500	12,5	-	-	-	-	-
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	+	+	+
<b>2,е</b>	500	12,5	-	-	+	+	+
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	+	+	+
<b>3,е</b>	500	12,5	-	-	-	-	-
	455	22,7	-	-	-	-	-
	228	11,4	-	-	+	+	+
	500	12,5	-	+	+	+	+
	500	6,25	-	+	+	+	+
	500	2,5	-	+	+	+	+

проявляется при концентрациях 455-500 мкг/мл и содержании мирамистина 22,7 мкг/мл. При меньшей концентрации мирамистина в ряде случаев была зарегистрирована фунгистатичная активность. Интересно отметить, что для соединения **3,а** фунгицидное действие было отмечено и при концентрации 228 мкг/мл и содержании мирамистина 11,4 мкг/мл. Таким образом, было установлено, что добавление мирамистина к исследуемым соединениям усиливает антигрибковый эффект. Данный эффект не может быть связан с активностью самого мирамистина в виду его низких концентраций. Полученные результаты интересны с точки зрения создания новых антифунгальных препаратов

а – отсутствие видимых признаков роста грибов, б – наличие видимых признаков роста грибов

### ВЫВОД

В результате проведенного исследования изучена антифунгальная активность продуктов конденсации салицилового альдегида и координационных соединений цинка на их основе. Установлено, что триазолы и цинковые комплексы проявляют умеренную фунгистатическую активность. Комбинация исследуемых соединений с препаратом мирамистин приводит к усилению антифунгального действия по отношению к *Candida albicans*.

### Список литературы

1. Kane J.M. ChemInform Abstract: 2,4-Dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-ones as Anticonvulsant Agents / J.M. Kane, B.M. Baron, M.W. Dudley [et al.] // J. Med. Chem. – 1990. – Vol. 33, № 10. – P. 2772–2777.
2. Chu Yong. Synthesis of Novel Antifungal Triazole Compounds / Yong Chu, Ming Xia Xui, Ding Lu // Chin. Chem. Lett. – 2004. – Vol. 15, № 9. – P. 1011–1014.
3. Nowaczyk A. Triazole derivatives with antifungal activity: a pharmacophore model study / A. Nowaczyk, B. Modzelewska – Banachiewicz // Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research. – 2008. – Vol. 65, № 6. – P. 795–798.
4. Eto H. New Antifungal 1,2,4-Triazoles with Difluoro(heteroaryl)methyl Moiety / Hiromichi Eto, Yasushi Kaneko, Takao Sakamoto // Chem. Pharm. Bull. – 2000. – Vol. 48, No. 7. – P. 982–990
5. Kokil G. R. Synthesis and In Vitro Evaluation of Novel 1, 2, 4-Triazole Derivatives as Antifungal Agents / Ganesh R. Kokil, Prarthana V. Rewatkar, Sandeep Gosain [et al.] // Letters in Drug Design & Discover. – 2010. – Vol. 7. – P. 46–49.
6. Eto H. New Antifungal 1,2,4-Triazoles with Difluoro(substituted sulfonyl)methyl Moiety / Hiromichi Eto, Yasushi Kaneko, Sunao Takeda [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2001. – Vol. 49, № 2. – P. 173–182.
7. Bagihalli G.B. New Antifungal 1,2,4-Triazoles with Difluoro(substituted sulfonyl)methyl Moiety / G.B. Bagihalli, S.A. Patil, P.S. Badami // Iran. Chem. Soc. – 2009. – Vol. 6, № 2. – P. 259–270
8. Badwaik V.B. Synthesis, Characterization, and Biological Studies of Some Schiff Base Complexes. / V.B. Badwaik, A.S. Aswar // Russ. Journal of Coord. Chem. – 2007. Vol. 33, № 10. – P. 755–760.
9. Yadawe M.S. Synthesis, characterization and biological studies of cobalt(II) and nickel(II) complexes with new Schiff bases / Mallikarjun S. Yadawe, Sangamesh A. Patil // Trans. Met. Chem. – 1997. – Vol. 22. – P. 220–224.
10. Гусев А.Н. Синтез и молекулярное строение комплекса цинка и 3-(пиридин-2-ил)-5-(2-салицилидениминофенил)-1H-1,2,4-триазола А.Н.Гусев, И.Л. Еременко., М.А. Кискин [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия "Биология и химия". – 2009. – Т. 22(61). – С. 154–156
11. Pat. 4.198.513 USA. 1,2,4-Triazoles. Baldwin J. et al. Assignee: Merck & Co., Inc. (Rahway, NJ). 05/894.450. Filed. April 7. 1978, Published April 15. 1980.

Гусев О.М. 5-(2'-гидроксифеніл)-2-(2'-піридил)-7,8-бензо-6,5-дигідро-1,3,6-триазаіндолізину координаційні сполуки цинку на їх основі: синтез та фунгіцидна активність / О.М. Гусев, В.Ф. Шульгін, О.М. Постникова, Ю.Л. Криворутченко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 352-359.

Синтезовані 5-(2'-гидроксифеніл)-2-(2'-піридил)-7,8-бензо-6,5-дигідро-1,3,6-триазаіндолізину, а також координаційні сполуки цинку на їх основі. Будову речовин досліджено методами ІЧ- і ПМР-спектроскопії. Досліджено антифунгальну активність отриманих сполук.

**Ключові слова:** дигідро-1,3,6-триазаіндолізину, координаційні сполуки, цинк, мірамистін, фунгіцидна активність.

Gusev A.N. 5-(2'-Hydroxyphenyl)-2-(2'-pyridyl)-7,8-benzo-6,5-dihydro-1,3,6-triazaindolizines and coordination compounds based on it: synthesis and antifungal activity / A.N. Gusev, V.F. Shul'gin, O.N. Postnikova, Y.L. Krivorutchenko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 352-359.

5-(2'-Hydroxyphenyl)-2-(2'-pyridyle)-7,8-benzo-6,5-dihydro-1,3,6-triazaindolizines and zinc coordination compounds based on it were obtained. The structure was determined by IR and NMR spectroscopy methods. Antifungal activity was investigated.

**Keywords:** dihydro-1,3,6-triazaindolizines, coordination compounds, zinc, miramistin, antifungal activity.

*Поступила в редакцію 22.05.2011 г.*

УДК 547.793.4

## СИНТЕЗ АЦЕТАМИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА И ПРОГНОЗ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

*Кривовяз А.А., Лендел В.Г.*

*Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина  
E-mail: 1977andr13@mail.ru*

На основании усовершенствованного метода получены ацетамидные производные пириимидина. Проведена дальнейшая функционализация исходных пириимидиновых систем с целью синтеза производных 1,3,4-оксадиазола. Конечные продукты подвергнуты компьютерному прогнозированию спектров биологической активности, проверены на соответствие критериям Липински и токсичность. Определены соединения-лидеры.

**Ключевые слова:** ацетамидные производные пириимидина, 1,3,4-оксадиазол, биологический скрининг, соответствие критериям Липински.

### ВВЕДЕНИЕ

Последнее время наблюдается большой интерес к производным пириимидина с разными гетероциклическими заместителями как соединениям с широкой биологической активностью [1, 2]. Присутствие в их составе ацетамидного фрагмента позволяет сделать предположение о потенциальной активности полученных продуктов по отношению к различным микроорганизмам. Поиск и разработка простых в исполнении методов синтеза таких производных является актуальной задачей еще и по той причине, что пириимидиновый гетероцикл очень распространен в органической природе и играет исключительно важную роль.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходные замещенные пириимидина 1–3 были получены разными способами. Так, соединение 1 синтезировано из тиомочевины, этилата калия и этилового эфира циануксусной кислоты [3].

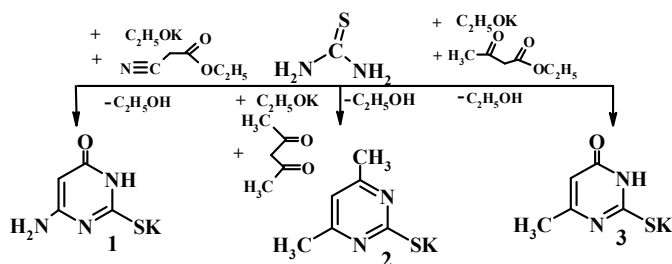
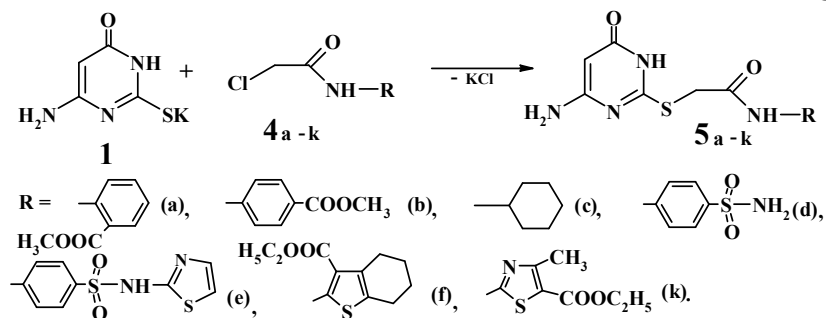


Схема 1



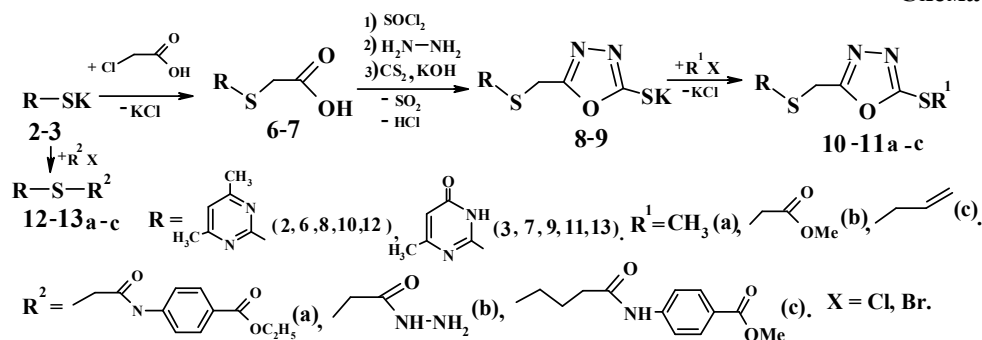
Калиевая соль 2-меркапто-4,6-диметилпириимидина **2** образуется при действии на тиомочевину ацетилацетоном в среде этилата калия [4], а в результате конденсации тиомочевины с ацетоуксусным эфиром [5] выделено соединение **3** (схема 1). Эти продукты **1–3** послужат модельными для дальнейшей функционализации. Калиевая соль пириимидина **1** была подвергнута алкилированию синтонами **4a–k**. Из спиртового раствора выделены продукты **5a–k** (схема 2). Следует заметить, что в таких синтезах мы использовали усовершенствованную нами методику получения ацетамидных производных [6].

Схема 2



Функционализация исходных пириимидинов **2–3** проводилась по двум направлениям. Сначала была предпринята попытка провести удлинение углеродного скелета с дальнейшим синтезом на его основе новой гетероциклической системы **8–9**, а по другому направлению был осуществлен направленный синтез соединений **12–13a–c**, содержащие в своем составе фармакофорные фрагменты. Так, при действии на исходные калиевые соли **2–3** хлоруксусной кислотой, получены гетероциклические кислоты **6–7**. Проведя ряд последующих превращений (получение хлорангидрида, этерификация, образование гидразида и его реакция с сероуглеродом) мы выделили новые производные 1,2,3-оксадиазола **8–9** (схема 3).

Схема 3



Далее было проведено их алкилирование в спиртовой среде. В результате выделены продукты **10–11a–c**. Получение продукта **10c** позволяет в будущем расширить границы наших исследований, поскольку появляется возможность изучать действие электрофилов (**Br<sub>2</sub>**, **I<sub>2</sub>**, **SeBr<sub>4</sub>**, **PhSeBr<sub>3</sub>**) на кратную связь аллильного фрагмента.

Структуры всех полученных соединений были подвергнуты компьютерной обработке по выявлению возможной биологической активности и соответствию критериям Липински (лекарствоподобности).

**Экспериментальная часть.** Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  получены на приборе “Varian VXR-300” (300 МГц) в  $\text{DMSO-d}_6$  с внутренним стандартом ТМС.

Протонные спектры соединений **5a**, **5d** и **5k** представлены в работе [6].

**Калиевая соль 4-метил-2-тио-1,6-дигидро-6-пиримидинона 3.** 0,60 моль металлического калия растворяют в 30 мл безводного этанола. После этого, в реакционную колбу прибавляют 0,50 моль растертой тиомочевины и приливают 0,50 моль ацетоуксусного эфира. Реакционную смесь кипятят 2 ч. После охлаждения в колбу добавляют 30 мл соляной кислоты. Белый осадок основания **3** отфильтровывают и снова растворяют в насыщенном растворе 0,50 моль гидроксида калия в воде. Кристаллы калиевой соли **3** отфильтровывают, промывают этанолом и сушат на воздухе. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ): 2,07 с (3H,  $\text{CH}_3$ ); 5,68 с (1H, CH); 12,27 уш. с (1H, NH). Выход – 89 %. Найдено (%): N 19,66.  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OSK}$ . Вычислено (%): N 19,70.

**Общая методика получения продуктов 5a–k и 12–13a–с.** В реакционной колбе, нагревают 0,50 моль калиевой соли **1** с 0,50 моль синтона **4b** или алкилирующего реагента, образованного из соответствующего ароматического амина и эквимолярного количества хлорацетилхлорида в 25 мл этанола. Реакционную смесь нагревают (60–80 °С) в течение 1 ч. После охлаждения выпавшие кристаллы **5a–k** или **12–13a–с** отфильтровывают, промывают водой, этанолом и сушат на воздухе.

**(4-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидинметилкарбоксамидо)метил бензоат 5b.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ): 3,85 с (3H,  $\text{CH}_3$ ); 4,39 д (2H,  $\text{SCH}_2$ ); 4,96 с (1H, CH); 6,60 д (2H,  $\text{NH}_2$ ); 7,61 д (2H, 2CH); 7,91 д (2H, 2CH); 11,58 м (1H, NH). Выход – 85 %. Найдено (%): N 16,72.  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено (%): N 16,76.

**N1-Циклогексил-2-(4-амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)ацетамид 5c.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ): 1,18 м (4H,  $2\text{CH}_2$ ); 1,68 м (4H,  $2\text{CH}_2$ ); 3,49 м (2H,  $\text{CH}_2$ ); 3,71 д (2H,  $\text{CH}_2$ ); 4,97 с (1H, NH); 6,52 с (2H,  $\text{NH}_2$ ); 7,94 д (1H, CH); 11,65 м (1H, NH). Выход – 71 %. Найдено (%): N 19,80.  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено (%): N 19,84.

**N1-[4-(1,3-Тиазол-2-сульфамидо)фенил]-2-(4-амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)ацетамид 5e.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ): 4,00 д (2H,  $\text{NH}_2$ ); 5,04 с (1H, NH); 6,54 д (2H,  $\text{CH}_2$ ); 6,83 д (1H, CH); 7,26 д (1H, CH); 7,76 м (4H,  $4\text{CH}_{\text{Ph}}$ ); 10,50 с (1H, NH). Выход – 68%. Найдено (%): N 19,06.  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}_3$ . Вычислено (%): N 19,17.

**(4-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)-4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен-3-этилкарбоксилат 5f.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ): 1,27 т (3H,  $\text{OC}_2\text{H}_5$ ); 1,72 м (4H,  $2\text{CH}_2$ ); 2,60 д (4H,  $2\text{CH}_2$ ); 4,08 д (2H,  $\text{NH}_2$ ); 4,28 м (2H,  $\text{OC}_2\text{H}_5$ ); 5,07 м (1H, NH); 6,51 м (1H, CH); 11,61 м (1H, NH). Выход – 61 %. Найдено (%): N 13,68.  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$ . Вычислено (%): N 13,72.

**(4,6-Диметил-2-тиопиримидинметилкарбоксамидо)этилбензоат 12a.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ): 1,31 т (3H,  $\text{OC}_2\text{H}_5$ ); 2,32 с (6H,  $2\text{CH}_3$ ); 4,07 д (2H,  $\text{SCH}_2$ ); 4,30 м (2H,  $\text{OC}_2\text{H}_5$ ); 6,96 с (1H,  $\text{CH}_{\text{Ph}}$ ); 7,73 д (2H,  $2\text{CH}_{\text{Ph}}$ ); 7,92 д (2H, 2CH); 10,58 с (1H, NH). Выход – 79%. Найдено (%): N 12,08.  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ . Вычислено (%): N 12,17.

**Гидразид (4,6-диметил-2-тиопиримидин)уксусной кислоты 12b.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,35 с (6H, 2CH<sub>3</sub>); 3,79 с (2H, SCH<sub>2</sub>); 4,34 м (2H, NH<sub>2</sub>); 6,97 с (1H, CH); 9,23 с (1H, NH). Выход – 73%. Найдено (%): N 26,37. C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>OS. Вычислено (%): N 26,39.

**Гидразид (4-метил-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)уксусной кислоты 13b.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,65 с (3H, CH<sub>3</sub>); 3,37 д (2H, CH<sub>2</sub>); 4,74 м (1H, NH); 5,39 с (1H, CH); 9,12 м (2H, NH<sub>2</sub>); 14,20 м (1H, NH). Выход – 71%. Найдено (%): N 12,05. C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено (%): N 12,10.

**[3-(4,6-Диметил-2-тиопиримидин)пропилкарбоксамидо]метилбензоат 12c.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 1,30 т (3H, OCH<sub>3</sub>); 2,06 т (2H, CH<sub>2</sub>); 2,55 д (3H, CH<sub>3</sub>); 3,71 т (2H, CH<sub>2</sub>); 4,29 м (2H, CH<sub>2</sub>); 6,52 д (1H, CH); 7,77 д (2H, 2CH<sub>Ph</sub>); 7,91 д (2H, 2CH<sub>Ph</sub>); 10,41 м (1H, NH). Выход – 71%. Найдено (%): N 11,64. C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S. Вычислено (%): N 11,69.

**(4-Метил-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидинметилкарбоксамидо)этил бензоат 13a.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 1,31 т (3H, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>); 2,11 с (3H, CH<sub>3</sub>); 4,11 с (2H, CH<sub>2</sub>); 4,30 м (2H, CH<sub>2</sub>); 6,01 м (1H, CH); 7,72 д (2H, 2CH<sub>Ph</sub>); 7,93 д (2H, 2CH<sub>Ph</sub>); 10,61 с (1H, NH); 12,56 м (1H, NH). Выход – 71%. Найдено (%): N 12,05. C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено (%): N 12,10.

**2-(4,6-Диметил-2-тиопиримидин)уксусная кислота 6.** Нагревают 0,50 моль калиевой соли пиримидина **2** с раствором 0,50 моль хлоруксусной кислоты в 20 мл этанола в течение 60 мин. Выпавший осадок продукта **4** отфильтровывают, промывают дистиллированной водой и этанолом, сушат на воздухе. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,34 с (6H, 2CH<sub>3</sub>); 3,91 д (2H, SCH<sub>2</sub>); 6,97 с (1H, CH); 12,60 м (1H, OH). Выход – 85%. Найдено (%): N 21,00. C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S. Вычислено (%): N 21,09.

**5-(4,6-Диметил-2-тиопиримидинметил)-2,3-дигидро-1,3,4-оксадиазол-2-тион 8.** К 0,50 моль твердой исходной кислоты **6** приливают 1,0 моль тионилхлорида. Реакционную смесь нагревают 6 ч. После охлаждения в колбу добавляют 0,60 моль гидразингидрата и содержимое колбы перемешивают 2 ч. Образовавшийся белый осадок гидразида отфильтровывают, промывают этанолом и сушат на воздухе. При использовании известной методики получения 1,3,4-оксадиазолов из гидразида, сероуглерода и гидроксида калия получена калиевая соль оксадиазола. Учитывая ее плохую способность к кристаллизации, была осаждена тионная форма **8** действием раствора соляной кислоты. Конечный продукт был отфильтрован, промыт этанолом, водой и высушен на воздухе. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,35 с (6H, 2CH<sub>3</sub>); 4,51 д (2H, CH<sub>2</sub>); 7,03 с (1H, NH). Выход – 80%. Найдено (%): N 27,38. C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>N<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>. Вычислено (%): N 27,43.

**Общая методика алкилирования производных 1,3,4-оксадиазола 8–9.** Растворяют 0,50 моль тиона 1,3,4-оксадиазола **8–9** в 20 мл спиртового раствора 0,50 моль гидроксида калия. К образованному раствору добавляют 0,60 моль соответствующего алкилгалогенида. Реакционную смесь нагревают в течение 40 мин. Белый осадок отфильтровывают, промывают этанолом, дистиллированной водой и сушат на воздухе.

**[5-(4,6-Диметил-2-тиопиримидинметил)-1,3,4-оксадиазол]метилацетат 10b.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,34 с (6H, 2CH<sub>3</sub>); 3,65 д (3H, OCH<sub>3</sub>); 4,19 д (2H, SCH<sub>2</sub>); 4,63 д (2H, SCH<sub>2</sub>); 7,02 с (1H, NH). Выход – 77%. Найдено (%): N 21,33. C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Вычислено (%): N 21,39.

**4-Метил-2-(5-метилтио-1,3,4-оксадиазол-2-ил)-1,6-дигидро-6-пиримидион 11a.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,51 д (2H,  $\text{CH}_2$ ); 2,56 с (3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,66 д (2H,  $\text{SCH}_2$ ); 5,52 с (1H, CH); 5,93 с (1H, NH). Выход – 75%. Найдено (%): N 20,69.  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ . Вычислено (%): N 20,73.

**4-Метил-2-(5-аллилтио-1,3,4-оксадиазол-2-ил)-1,6-дигидро-6-пиримидион 11c.** Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,26 с (3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,65 д (2H,  $\text{CH}_2$ ); 3,86 д (2H,  $\text{SCH}_2$ ); 5,15 м (2H,  $=\text{CH}_2$ ); 5,37 м (2H,  $\text{CH}_2$ ); 5,53 с (1H, CH); 6,01 м (1H,  $=\text{CH}_2$ ); 12,98 м (1H, NH). Выход – 77%. Найдено (%): N 18,85.  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ . Вычислено (%): N 18,90.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате химических превращений получены устойчивые продукты **5a–k**, **6–9**, **10–13a–c**, которые были индивидуально выделены и идентифицированы по спектрам. Так, для соединений **5a–k** и **12–13a–c** наблюдаются сигналы протона амидной группы (NH) в виде синглета в области 10,50–12,50 м.д. и 10,40–12,55 м.д. Для соединения **6** в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  наблюдается сигнал протона карбоксильной группы в виде размытого синглета в слабом поле при 12,60 м.д. Спектральные данные для оксадиазольных продуктов **8–9** также подтверждают их структуру, при этом сигналы двух метильных групп пиримидина проявляются синглетом при 2,35 м.д. В продукте алкилирования **11a** присутствует сигнал протонов  $\text{CH}_3$ -группы в виде синглета при 2,56 м.д., а аллильный фрагмент соединения **11c** проявляется дублетом при 3,86 м.д. ( $\text{SCH}_2$ ), двумя дублетами при 5,15 и 5,37 м.д. ( $=\text{CH}_2$ ) и мультиплетом при 6,01 м.д. ( $=\text{CH}$ ).

Таблица 1

Вероятность проявления некоторых видов биологической активности для соединений **6**, **10b**, **11a**, **12b**, **13b**

Номер соединения	Противотуберкулезная	Периферическая	Антибактериальная активность	Противоопухолевая (рак легких)	Ингибитор трансферазы	Антимикобактериальная	Антигиперхолестерическая	Противоартритная	Ингибитор НАДФ пероксидазы	Противосеборейная	Ингибитор дегидрогеназы
<b>6</b>					0,881 <sup>1</sup>		0,748 <sup>1</sup> 0,759 <sup>2</sup>	0,858 <sup>1</sup>	0,835 <sup>1</sup> 0,572 <sup>2</sup>	0,826 <sup>1</sup> 0,812 <sup>2</sup>	0,642 <sup>2</sup>
<b>10b</b>		0,691 <sup>1</sup> 0,765 <sup>2</sup>		0,807							
<b>11a</b>		0,844 <sup>1</sup> 0,934 <sup>2</sup>	0,515 <sup>2</sup>	0,804							
<b>12b</b>	0,768 <sup>1</sup> 0,729 <sup>2</sup>		0,596 <sup>2</sup>		0,720 <sup>1</sup>	0,700 <sup>1</sup> 0,664 <sup>2</sup>	0,745 <sup>1</sup> 0,747 <sup>2</sup>				0,823 <sup>1</sup> 0,820 <sup>2</sup>
<b>13b</b>	0,747 <sup>1</sup> 0,719 <sup>2</sup>		0,519 <sup>2</sup>			0,736 <sup>1</sup> 0,700 <sup>2</sup>					0,647 <sup>1</sup> 0,646 <sup>2</sup>

Примечания: <sup>1</sup>-Вероятность проявления биологической активности программой PASS.

<sup>2</sup>-Вероятность проявления биологической активности сервисом Pharmaexpert.

Кроме того, мы также ставили задачу проверить компьютерными расчетами вероятность проявления спектра биологической активности. Для реализации этого мы использовали систему PASS [7] и программу Pharmaexpert [8], которые прогнозируют на основе структурной формулы соединения более 500 видов активностей и помогают сузить границы экспериментального скрининга для выявления соединений-лидеров. В Таблице 1 приведены результаты таких расчетов и представлены только вероятности проявления (*Pa*) биологического действия. Соединения **5a–k**, **8**, **11c**, **12a**, **12c**, **13a** при расчете не показали высокой активности и были исключены из дальнейших исследований. Перспективные соединения **6**, **10b**, **11a**, **12b**, **13b** были проверены также на соответствие критериям Липински [9] и токсичность [10]. Для таких расчетов использовались бесплатные сервисы с набором программ [10, 11].

Таблица 2

Расчет критериев Липински и токсичности для продуктов **6**, **10b**, **11a**, **12b**, **13b**

Номер соединения	Log P	Молекулярная полярная поверхность, Å <sup>2</sup>	Не водородные атомы	Молекулярная масса	Акцепторы водородных связей (O,N)	Количество доноров водородной связи (NH)	Вращающиеся связи	Молекулярный объем, Å <sup>3</sup>	Расчет токсичности вещества согласно сервису [10]		
									Внутривенно LD <sub>50</sub> (mg/kg) Class 5	Орально LD <sub>50</sub> (mg/kg) Class 4	Подкожно LD <sub>50</sub> (mg/kg) Class 4
<b>6</b>	1,394	63,08	13	198,2	4	1	3	170,7	466,10	912,00	964,90
<b>10b</b>	1,831	91,01	21	326,4	7	0	7	267,9	351,40	890,40	1778,00
<b>11a</b>	1,194	84,68	17	270,3	6	1	4	214,7	490,80	700,40	884,10
<b>12b</b>	0,194	80,91	14	212,3	5	3	3	186,5	418,00	600,20	634,40
<b>13b</b>	0,969	100,80	14	214,2	6	4	3	178,0	390,00	441,40	911,80

### ВЫВОДЫ

1. Впервые получена серия ацетамидных производных пиримидина **5a–k** и **12–13a–c**.
2. Проведена дальнейшая функционализация пиримидинов **2–3** с образованием производных 1,3,4-оксадиазола **8–9**. Алкилированием получены его тиоэфиры **10–11a–c**.
3. Проведен компьютерный прогноз биологической активности с помощью программы PASS, Pharmaexpert, согласование критериям Липински и проверка токсичности (малотоксичные – класс 4, нетоксичные – класс 5) всех полученных соединений.
4. Определены соединения-лидеры (**6**, **12b**, **13b**) для дальнейшего исследования.

Список литературы

1. Studies on  $\alpha$ -[6-(2'-methoxynaphthalenyl)-4-phenylpyrimidinylthio]- $\beta$ -(4-phenylbenzoyl)propionic acid and the biological activity of some products / M.M. Arief, S.A. Essawy, A.A. Wasfy [et al.] // Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements. – 1994. – Vol. 91, № 1,4. – P. 1–7.
2. Synthesis and Biological Study of Some Novel 4-[5-(4,6-Disubstituted-2-thiomethylpyrimidyl)-4'-amino-1,2,4-triazol-3'-yl]thioacetyl-3-arylsydnonones / B. Kalluraya, B. Lingappa, S.R. Nooji [et al.] // Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements. – 2007. – Vol. 182, № 6. – P. 1393–1401.
3. Structure-Based Design, Synthesis, and in vitro evaluation of Bisubstrate Inhibitors for Catechol O-Methyltransferase / B. Masjost, P. Ballmer, E. Borroni [et al.] // Chemistry A European Journal. – 2000. – Vol. 6, № 6. – P. 971–982.
4. Pat. US 3932375 (A). Use of 2-pyrimidine thiol carbonates as acylating agents for amino or imino containing compounds / N. Takeshi, K. Katumasa, K. Kouichi – US1974047918819740613; publ. 13.01.1976.
5. Ringspaltungsreaktion von Thiadiazolo- und Triazolopyrimidin-Derivaten / T. Okabe, E. Taniguchi, K. Maekawa [et al.] // Bulletin of the Chemical Society of Japan. – 1974. – Vol. 47. – P. 2813–2817.
6. Кривов'яз А.О. Функціоналізація 4-аміно-2-тіо-6-піримідинонів / А.О. Кривов'яз, Ю.І. Фаринюк, В.Г. Лендел // Науковий вісник ужгородського університету. Серія Хімія. – 2009. – Вип. 22. – С. 123–126.
7. Orechovich V.N. Institute of Biomedical Chemistry. PASS: <http://195.178.207.233/PASS/>.
8. Pharmaexpress: <http://pharmaexpert.ru/PASSonline/predict.php>.
9. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney [et al.] // Adv. Drug. Delivery Rev. – 1997. – Vol. 23. – P. 4–25.
10. Pharmaexpress, Gusar online: <http://www.pharmaexpert.ru/GUSAR/acutoxpredict.html>.
11. Molinspiration Cheminformatics: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

**Кривов'яз А.О. Синтез ацетамідних похідних піримідину та прогноз їх біологічної активності / А.О. Кривов'яз, В.Г. Лендел // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 360-366.**

На основі вдосконаленого методу одержані оцетамідні похідні піримідину. Проведена подальша функціоналізація вихідних піримідинових систем з метою синтезу похідних 1,3,4-оксадіазолу. Кінцеві продукти були піддані комп'ютерному прогнозуванню спектрів біологічної активності, перевірені на відповідність критеріям Ліпінскі та токсичність. Визначено сполуки-лідери.

**Ключові слова:** ацетамідні похідні піримідину, 1,3,4-оксадіазол, біологічний скринінг, відповідність критеріям Ліпінскі.

**Kryvov'yaz A.O. Synthesis of derivatives pyrimidine and prediction their biological activity / A.A. Kryvov'yaz, V.G. Lendel // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 360-366.**

On the basis of the method obtained amide derivatives of pyrimidine. Carried out further functionalization received initial pyrimidine systems to the synthesis of 1,3,4-oxadiazole derivatives. All final products subjected to computer prediction of biological activity spectra and checked for criterion Lipinski. Identified compounds leaders.

**Keywords:** acetamide derivatives of pyrimidine, 1,3,4-oxadiazole, biological screening, criterion Lipinski.

*Поступила в редакцію 25.05.2011 г.*

**УДК 543.257:681.142.2**

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ПАРАМЕТРОВ КРИВОЙ ОСАДИТЕЛЬНОГО ТИТРОВАНИЯ**

*Кропотов В.А.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: vkropotov@crimea.edu*

Проведен сравнительный анализ четырех методов оценки воспроизводимости параметров кривой седиметрического титрования: по повторным титрованиям, из суммы квадратов отклонений и двух способов, базирующихся на "законе распространения погрешностей". Установлено, что в большинстве титрований все методы дают в целом неплохо согласующиеся между собой результаты. При оценке прецизионности результатов по единственному титрованию в общем случае преимущество имеют методы, основанные на "законе распространения погрешностей".

**Ключевые слова:** потенциометрическое титрование, прогнозирование погрешностей, осадительное титрование.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время для оценки воспроизводимости параметров кривой потенциометрического титрования, получаемых методом наименьших квадратов (МНК), в основном применяют повторные эксперименты (титрования) и сумму квадратов отклонений.

Повторные эксперименты, согласно [1], являются самым надежным способом оценивания воспроизводимости рассчитываемых величин. В случае титрования они позволяют учесть случайные погрешности, возникающие на всех повторяющихся этапах титриметрического эксперимента, включая отбор пробы. Серьезным недостатком этого метода является необходимость выполнения достаточно большого числа (не менее 20) титрований, в то время как обычно проводят не более 3–5 повторений. Как следствие, найденные оценки воспроизводимости параметров могут быть не достаточно надежными.

Второй способ, основанный на использовании суммы квадратов отклонений, позволяет получить оценку воспроизводимости параметров из единственного эксперимента. Он принимает во внимание только случайные погрешности, возникающие на этапе добавления титранта. Особенностью этого метода является чувствительность к неадекватности регрессионной модели. При оценке параметров нелинейных зависимостей, согласно [1], для него характерен большой разброс дисперсий параметров, в силу чего их значения следует рассматривать как грубые, правильно отражающие порядок величины оценки и не более.

К другим методам, позволяющим оценить дисперсии параметров кривой по единственному титрованию, относятся методы [2, 3], базирующиеся на "законе распространения погрешностей". В них предполагается, что дисперсии измеряемых величин заранее известны. Их особенностью является малая чувствительность к неадекватности модели титрования.

В методе [2] для оценки прецизионности параметров кривой потенциометрического титрования решают систему линейных уравнений

$$\begin{aligned} A_{11}\sigma_{U_1}^2 + A_{12}\sigma_{U_2}^2 + \dots + A_{1m}\sigma_{U_m}^2 &= (\sigma'_{U_1})^2, \\ A_{21}\sigma_{U_1}^2 + A_{22}\sigma_{U_2}^2 + \dots + A_{2m}\sigma_{U_m}^2 &= (\sigma'_{U_2})^2, \\ &\vdots \\ A_{m1}\sigma_{U_1}^2 + A_{m2}\sigma_{U_2}^2 + \dots + A_{mm}\sigma_{U_m}^2 &= (\sigma'_{U_m})^2, \end{aligned} \quad (1)$$

где  $\sigma_{U_i}^2$  – дисперсия параметра  $U_i$  ( $i = 1, 2, \dots, m$ ,  $m$  – число искомых параметров);  $(\sigma'_{U_i})^2$  – дисперсия, характеризующая прямое воздействие погрешностей измерения на параметр  $U_i$ . Коэффициенты  $A_{ij}$  учитывают корреляцию параметров кривой титрования и рассчитываются из аналитических выражений для частных производных модельной функции по искомым параметрам.

В основе метода [3] лежит выражение

$$\sigma_{U_i}^2 = (k_E^{U_i} \sigma_E)^2 + (k_V^{U_i} \sigma_V)^2, \quad (2)$$

где  $\sigma_E^2$  и  $\sigma_V^2$  – дисперсии, характеризующие соответственно случайные погрешности измерения потенциала (или рХ) и добавленного объема титранта (предполагается, что обе случайные погрешности независимы, а относящиеся к ним дисперсии постоянны). Значения коэффициентов  $k_E^{U_i}$  и  $k_V^{U_i}$  находят из кажущихся частных производных искомых параметров по потенциалу (или рХ) и объему титранта, рассчитываемых численным дифференцированием. Серьезный недостаток этого метода заключается в том, что он требует выполнения  $2n$  дополнительных определений параметров и подбора шага для численного дифференцирования для каждого конкретного титрования.

Учитывая, что описанные выше схемы оценки прецизионности параметров кривой титрования различаются, в общем случае эти методы могут давать отличающиеся результаты. В связи с этим целесообразно сравнить особенности данных методов в различных типах титрования.

В данной статье приводятся результаты сравнительного анализа воспроизводимости оценок параметров потенциометрического осадительного титрования 1:1, полученные представленными выше методами.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кривые потенциометрического осадительного титрования 1:1 с заранее известными характеристиками получали по методу Монте-Карло.



Первоначально заданные номинальные объемы титранта суммировали с нормально распределенными погрешностями его дозирования ( $\sigma_V=0,001$  мл). Затем, для каждого полученного таким образом объема титранта рассчитывали соответствующее значение рМ раствора и прибавляли к нему нормально распределенную погрешность измерения рМ ( $\sigma_{pMe}=0,001$  ед. рМ). После этого восстанавливали исходные значения добавленного объема титранта. Основные расчеты проводили со следующими сгенерированными кривыми титрования:

1. (5:1:5) –  $V=0,30, 0,90, 1,50, 2,10, 2,40, 2,50, 2,60, 3,10, 3,70, 4,30, 4,90$  мл;
2. (10:1:10) –  $V=0,30, 0,60, 0,90, 1,20, 1,50, 1,80, 2,10, 2,30, 2,40, 2,45, 2,50, 2,55, 2,60, 2,80, 3,10, 3,40, 3,70, 4,00, 4,30, 4,60, 4,90$  мл;
3. (19:1:20) –  $V=0,15, 0,30, 0,45, 0,60, 0,75, 0,90, 1,05, 1,20, 1,35, 1,50, 1,65, 1,80, 1,95, 2,10, 2,20, 2,30, 2,35, 2,40, 2,45, 2,50, 2,55, 2,60, 2,65, 2,70, 2,80, 2,85, 2,95, 3,10, 3,25, 3,40, 3,55, 3,70, 3,85, 4,00, 4,15, 4,30, 4,45, 4,60, 4,75, 4,90$  мл.

Концентрацию титруемого металла варьировали от  $5 \times 10^{-4}$  М до  $5 \times 10^{-3}$  М. Исходный объем титруемого раствора и объем точки эквивалентности во всех титрованиях были соответственно равны 50 мл и 2,5 мл.

Обработку сгенерированных кривых титрования проводили нелинейным регрессионным анализом с помощью логарифмических зависимостей

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

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

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

Значение рПР рассчитывали по формуле:

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

Более подробные сведения по обработке кривых осадительного титрования с помощью логарифмических зависимостей приведены в статье [4].

Оценки стандартных отклонений параметров кривой титрования находили следующими способами:

1. из 20 повторных титрований;
2. из суммы квадратов отклонений;
3. решением системы уравнений (1);
4. из кажущихся частных производных (уравнение (2)).

В последнем варианте предварительно было установлено, что наиболее подходящим для всех титрований шагом для численного дифференцирования

является шаг, равный 1,5 стандартным отклонениям  $\sigma_E$  и  $\sigma_V$ . Этот шаг использовался во всех седиметрических титрованиях.

Дисперсию рПП в трех последних способах рассчитывали по формуле:

$$\sigma_{\text{рПП}}^2 = \frac{\sigma_{a_1}^2 + \sigma_{a_2}^2 - 2r_{a_1,a_2} \sigma_{a_1} \sigma_{a_2}}{b_1^2},$$

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

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Некоторые типичные результаты исследования представлены в таблицах 1–3. Они относятся к титрованиям, наиболее близким к натурному эксперименту ( $\sigma_V=0,001$  мл,  $\sigma_{\text{рМ}}=0,001$  ед. рМ).

В Таблице 1 приведены отношения F максимальной и минимальной оценок дисперсий параметров в пределах каждого метода их вычисления.

**Таблица 1**

**Отношение F максимальной и минимальной дисперсий параметров для некоторых титрований ( $\sigma_V=0,001$  мл,  $\sigma_{\text{рМ}}=0,001$  ед. рМ,  $c_M=5 \times 10^{-4}$  М)**

Кривая	рПП=8		рПП=10		рПП=16	
	lgIPP	$V_e$	lgIPP	$V_e$	lgIPP	$V_e$
<b>Из суммы квадратов отклонений<sup>а</sup></b>						
5:1:5	9,4 (4,7)	9,2 (4,7)	11	11	7,4	7,4
10:1:10	3,4 (2,9)	3,4 (2,9)	2,7	2,7	2,8	2,8
19:1:20	2,4 (2,4)	2,8 (2,3)	2,1	2,1	2,3	2,3
<b>Из повторных титрований<sup>б</sup></b>						
5:1:5	2,3 (2,9)	2,0 (1,6)	2,6	1,8	2,4	4,1
10:1:10	1,5 (1,7)	2,1 (1,2)	3,1	1,4	1,9	3,0
19:1:20	2,1 (2,1)	3,5 (1,9)	1,3	1,3	1,9	1,3
<b>Из системы линейных уравнений</b>						
5:1:5	1,1 (1,0)	1,2 (1,0)	1,0	1,0	1,0	1,0
10:1:10	- (1,0)	- (1,0)	1,0	1,0	1,0	1,0
19:1:20	1,2 (1,0)	1,2 (1,0)	1,0	1,0	1,0	1,0
<b>Из кажущихся производных</b>						
5:1:5	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	1,0	1,0	1,7	22
10:1:10	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	1,0	1,0	2,0	14
19:1:20	1,0 (1,0)	1,0 (1,0)	1,0	1,0	3,1	32

а) найдены из 20 повторных титрований, б) найдены из 4 серий по 20 титрований.

Из Таблицы 1 видно, что наибольший разброс выборочных дисперсий, как правило, наблюдается при их оценке из суммы квадратов отклонений, а наименьший – при оценке из системы уравнений (1) и кажущихся производных. В двух последних случаях за исключением титрований с  $rPP=8$  (для дисперсий из системы уравнений) и  $rPP=16$  (для дисперсий из кажущихся производных) отношение  $F$  практически всегда равно единице.

С теоретической точки зрения для заданных стандартных отклонений измерений ( $\sigma_E$  и  $\sigma_V$ ) оценки стандартных отклонений параметров, рассчитываемые из "закона распространения погрешностей", в повторных титрованиях должны совпадать. В действительности, эти величины от титрования к титрованию могут изменяться.

При оценке дисперсий параметров из системы уравнений (1) главным фактором, определяющим их разброс в повторных титрованиях, является обусловленность этой системы уравнений. Для всех титрованиях с  $rPP=8$  и  $c_M=5 \times 10^{-4}$  М система уравнений (1) плохо обусловлена (определитель близок к нулю). Из-за этого наблюдается заметный разброс дисперсий от титрования к титрованию, а в некоторых случаях (титрования 10:1:10) решение системы уравнений (1), имеющее физический смысл, вообще не удалось получить. Увеличение концентрации металла в растворе до  $5 \times 10^{-3}$  М в этих титрованиях улучшает обусловленность системы уравнений (1). Соответствующие отношения максимальной и минимальной дисперсий приведены в таблице 1 и последующих таблицах в круглых скобках.

При оценке дисперсий параметров из кажущихся производных было установлено, что для титрований с  $rPP = 16$  зависимость  $U_{\bar{f}}=f(E,V)$  становится заметно нелинейной, что и является причиной их сильного разброса в повторных титрованиях.

Проверку однородности дисперсий параметров пределах каждого конкретного метода их оценивания проводили с помощью критерия Бартлетта. Полученные результаты приведены в таблице 2. В ней отсутствуют результаты для дисперсий, рассчитываемых по уравнениям (1) и (2) (для них число степеней свободы равно  $\infty$ , что исключает применение критерия Бартлетта).

**Таблица 2**

**Значения коэффициентов В (критерий Бартлетта) для некоторых титрований  
( $\sigma_V=0,001$  мл,  $\sigma_{pM}=0,001$  ед. рМ,  $c_M=5 \times 10^{-4}$  М)**

Кривая	$rPP=8$		$rPP=10$		$rPP=16$		Критическое значение
	$lgPP$	$V_e$	$lgPP$	$V_e$	$lgPP$	$V_e$	
<b>Из суммы квадратов отклонений</b>							
5:1:5	14,2	14,2	16,8	16,8	16,8	16,8	$\chi^2_{0.95}(19)=30,1$
10:1:10	17,2	17,1	18,1	18,1	16,0	16,0	
19:1:20	21,4	21,4	13,6	13,6	16,6	16,6	
<b>Из повторных титрований</b>							
5:1:5	3,23	3,15	4,03	1,74	3,81	<b>12,1</b>	$\chi^2_{0.95}(3)=7.81$
10:1:10	0,73	3,01	2,73	0,66	2,28	6,41	
19:1:20	2,48	<b>8,39</b>	0,45	0,40	2,39	0,43	

Согласно Таблице 2, оценки дисперсий параметров, полученные из суммы квадратов отклонений, всегда являются однородными, несмотря на их значительную изменчивость в повторных экспериментах.

Гипотезу об однородности оценок дисперсий параметров, рассчитываемых по повторным титрованиям, иногда приходится отвергать, причем это относится только к титрованиям с небольшим числом точек и/или с рПП=8. Следует отметить, что критерий Бартлетта чувствителен к отклонениям исходных данных от нормального распределения. Поэтому иногда гипотезу об однородности дисперсий приходится отвергать не из-за неоднородности дисперсии, а из-за небольших отклонений выборки от нормального распределения [5].

В данном эксперименте все дисперсии в силу идентичности всех повторных титрований в пределах каждого метода их оценивания по определению являются однородными, поскольку. Это позволило вычислить сводные (усредненные) дисперсии параметров кривых титрования для каждого способа их нахождения.

Некоторые типичные результаты сравнения сводных дисперсий параметров, полученных разными методами, приведены в Таблице 3. В ней даны отношения  $F$  максимальной и минимальной сводных дисперсий, а также соответствующие стандартные отклонения:  $s$  – из повторных титрований,  $r$  – из суммы квадратов отклонений,  $\sigma'$  – из системы уравнений (1) и  $\sigma''$  – из кажущихся производных (уравнение (2)). Все величины в таблице 3 относятся к титрованиям 10:1:10, так как примерно такое число точек бывает на реальных кривых титрования.

**Таблица 3**  
**Значения стандартных отклонений параметров, полученные разными способами, и отношения  $F$  максимальной и минимальной дисперсий параметров (кривые 10:1:10,  $\sigma_V=0,001$  мл,  $\sigma_{pM}=0,001$  ед. рМ,  $c_M=5 \times 10^{-4}$  М)**

рПП	$s \times 10^4$	$r \times 10^4$	$\sigma' \times 10^4$	$\sigma'' \times 10^4$	$F$	Критическое значение $F$
<b>Для рПП</b>						
8	<u>7,04</u> (5,7)	<u>7,76</u> (5,86)	- (5,7)	7,2 (5,7)	1,22 (1,06)	$F_{0,95}(360,76)=1,37$
10	5,67	<u>6,22</u>	<u>5,65</u>	5,7	<b>1,21</b>	$F_{0,95}(360,\infty)=1,13$
12	<u>5,34</u>	5,67	5,63	<u>5,7</u>	1,13	$F_{0,95}(\infty,76)=1,34$
16	<u>6,07</u>	<u>5,47</u>	5,63	<b>7,02</b>	1,23	$F_{0,95}(76,360)=1,32$
<b>Для <math>V_e</math></b>						
8	<u>24,7</u> (4,4)	<u>27,2</u> (4,7)	- (4,4)	25,3 (4,6)	1,21 (1,13)	$F_{0,95}(360,76)=1,37$ $(F_{0,95}(360,\infty)=1,13)$
10	<u>5,17</u>	5,00	<u>4,38</u>	4,6	<b>1,39</b>	$F_{0,95}(76,\infty)=1,28$
12	<u>4,74</u>	<u>4,20</u>	4,07	4,2	1,34	$F_{0,95}(360,76)=1,37$
16	<u>3,54</u>	4,04	<u>4,06</u>	<b>8,26</b>	1,32	$F_{0,95}(\infty,76)=1,34$

*Примечание.* Наибольшая и наименьшая сравниваемые дисперсии в таблице выделены подчеркиванием, а значения  $F$ , превышающие критические значения, выделены жирным шрифтом.

Из Таблицы 3 следует, что, согласно критерия Фишера, гипотезу об однородности сводных дисперсий для  $rPP$ , полученных разными методами, за редким исключением следует признать согласующейся с опытом. Её иногда приходится отвергать для титрований с  $rPP=8-10$ . При этом экспериментальные отношения  $F$  не намного (не более 10%) превышают соответствующие критические значения. Следует также отметить, что для всех титрований с  $rPP=16$  сводные оценки воспроизводимости параметров, найденные из кажущихся производных, всегда в той или иной степени завышены (в таблице 3 они приведены жирным шрифтом).

Таким образом, учитывая все выше сказанное, гипотезу об однородности дисперсий параметров кривой седиметрического титрования, полученных рассматриваемыми в этой работе способами, можно в целом считать согласующейся с опытом. В тех случаях, когда эту гипотезу приходится отвергать, различия между максимальной и минимальной дисперсиями не столь велики, чтобы повлиять на порядок величины. Это дает возможность при оценке влияния случайных погрешностей измерения потенциала (или  $pX$ ) и дозирования объема на параметры кривой седиметрического титрования вместо повторных титрований и суммы квадратов отклонений использовать методы, базирующиеся на "законе распространения погрешностей". При этом необходимо учитывать особенности, присущие этим методам. Так при обработке титрований сильно разбавленных растворов с небольшой константой титрования использование системы линейных уравнений (1) может привести к неверным выводам, из-за ее плохой обусловленности. Применение кажущихся производных для прогнозирования воспроизводимости параметров, напротив, не рекомендуется при обработке титрований достаточно концентрированных растворов с большой константой равновесия. Таким образом, оба метода в определенном смысле дополняют друг друга.

Повторные титрования следует проводить в тех случаях, когда влияние случайных погрешностей, возникающих на этапах, предшествующих собственно титрованию, на результаты титрования сопоставимо с влиянием случайных погрешностей измерения потенциала (или  $pX$ ) дозирования объема титранта. Но и тогда их можно не проводить, если на всех этапах совокупного аналитического процесса доминируют инструментальные погрешности, которые можно учесть градуировкой измерительной аппаратуры и применением "закона распространения погрешностей".

## ВЫВОД

Проведен сравнительный анализ четырех методов оценки воспроизводимости параметров кривой седиметрического титрования: по повторным титрованиям, из суммы квадратов отклонений и двух способов, базирующихся на "законе распространения погрешностей". Установлено, что в большинстве титрований все методы дают в целом неплохо согласующиеся между собой результаты. При оценке прецизионности результатов по единственному титрованию в общем случае преимущество имеют методы, основанные на "законе распространения погрешностей".

**Список литературы**

1. Бард Й. Нелинейное оценивание параметров / Бард Й. – М.: Мир, 1979. – 349 с.
2. Кропотов В.А. Прогнозирование случайных погрешностей параметров кривой потенциометрического титрования: теоретический аспект / В.А. Кропотов // Ученые записки ТНУ. Биология, химия. – 2006. – Т. 19 (58), № 2. – С. 104–110.
3. Metes L. Factors affecting the precision of a new method for determining the reduced and oxidized forms of a redox couple by a single potentiometric titration / L. Metes, N. Fanelli // Anal. Chim. Acta. – 1987. – Vol. 194. – P. 151–162.
4. Кропотов В.А. Аппроксимация кривых комплексонометрического и седиметрического титрования логарифмическими зависимостями / В.А. Кропотов // Журн. аналит. химии. – 1998. – Т.53. № 6. – С. 566–570.
5. Большев Л.Н. Таблицы математической статистики. / Л.Н. Большев, Н.В. Смирнов – М.: ВЦ АН СССР, 1968. – 476 с.

**Кропотов В.А. Порівняльна характеристика деяких методів оцінки відтворюваності параметрів кривої осадительного титрування / С.Д. Борук // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 367-374.**

Проведено порівняльний аналіз чотирьох методів оцінки відтворюваності параметрів кривої седиметричного титрування: по повторних титруваннях, із суми квадратів відхилень і двох способів, що базуються на "законі поширення похібок". Установлено, що в більшості титрувань усі методи дають результати, що у цілому непогано погодяться між собою. При оцінці прецизійності результатів по єдиному титруванню в загальному випадку перевагу мають методи, засновані на "законі поширення похібок".

**Ключові слова:** потенціометричне титрування, прогнозування похібок, осадительне титрування.

**Kropotov V.A. Comparative characteristics of some methods for the reproducibility estimation of sedimentic titration curve parameters / V.A. Kropotov // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 367-374.**

The paper deals with the comparison of four methods of reproducibility estimation of sedimentic titration curve parameters (the repeated titration method, the sum of squares of deviations and two methods according to "the law of distribution of errors"). It is established that all methods as a whole give reproducibility estimations of a titration curve parameters correlating well in the majority of titrations. At unique titration generally the methods based on "the law of distribution of errors" have advantage.

**Keywords:** potentiometric titration, error prediction, sedimentic titration.

*Поступила в редакцію 21.05.2011 г.*

УДК 504.064:66.066.4:544.7:628.3

## ВИЗНАЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ «ОРГАНІЗОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА» ПІД ЧАС ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМИ «ПОЛІЕЛЕКТРОЛІТ – ВОДА»

*Кулалаєва Н.В.*

*Національний університет кораблебудування ім. адм. Макарова, Миколаїв, Україна  
E-mail: nat\_kul\_mik@mail.ru*

Методами іонометрії, вискозиметрії, спектрофотометрії досліджено властивості «організованого середовища», яке утворене катіонним поліелектролітом ВПК-402 у водному розчині та вплив на нього природи середовища, іонної сили розчинів, типів фонового електроліту, температури. Показано, що істотно впливають на його поведінку в розчині неорганічні електроліти, органічний дипольний розчинник, який гідрофілізує макромолекули поліелектроліту. Досліджено дію перелічених чинників на процес зв'язування полікатіонів аніонними барвниками при їх кількісному визначенні в системі «поліелектроліт–вода».

**Ключові слова:** «організоване середовище», система «поліелектроліт–вода», катіонний поліелектроліт, гідрофілізація, конформаційний стан.

### ВСТУП

Останнім часом області використання «організованих середовищ» дуже різноманітні. В хімії, біохімії їх застосовують у реакціях мембранного транспорту, у неорганічному та органічному синтезі, полімеризації, міжфазному та міцелярному каталізі, різних методах хімічного аналізу, для розділення та концентрування речовин [1, 10].

Використання поліелектролітів (ПЕ) поширене саме завдяки їхньої здатності до утворення «організованого середовища». Питанням синтезу та дослідження фізико-хімічних властивостей катіонних поліелектролітів в останній час приділяється багато уваги [2-4, 7-9].

Особливий інтерес представляють водорозчинні поліелектроліти, які поєднують властивості як високомолекулярних речовин так і електролітів. Тобто, проблеми фізико-хімії розчинів поліелектролітів цікаві для дослідників з двох позицій – полімерної (конформаційної) та електростатичної. Важливу роль відіграє взаємодія ПЕ з протиіонами, яка визначає більшість властивостей ПЕ. Системи „ПЕ – розчинник” характеризуються широким спектром внутрішньо - і міжмолекулярних іонних та неіонних взаємодій, котрі визначають загальний стан макромолекул у розчині, і тому дуже складні для дослідження. Наявність у макромолекулах гідрофобних та іоногенних груп призводить до утворення «організованого середовища», а саме скупчення полімерних молекул, вуглеводневе ядро яких підтримується у водному розчині гідрофільними групами [11]. Результати багатьох досліджень [3, 4] зв'язування барвників різними за хімічною будовою катіонними

ПЕ показали, що основним чинником, який визначає процес зв'язування – є первинна структура полімерів, при цьому зв'язування обумовлене як електростатичними так і гідрофобними взаємодіями. Таким чином, зовнішні чинники, що впливають на конформацію ПЕ (іонна сила, склад розчинника, іонізація) діятимуть на процес зв'язування, підсилюючи, або ослаблюючи його.

Властивості водних розчинів катіонних ПЕ вивчалися раніше методами світлорозсіювання, віскозиметрії, швидкісної седиментації, витискувальної хроматографії, діалізної рівноваги, флуориметрії, рН-метрії, потенціометрії, іонометрії та іншими [2, 3, 8, 9]. Однак проблема будови та властивостей «організованого середовища», поведження та стану поліелектролітів в системі «поліелектроліт-вода» ще далека від розв'язання.

Враховуючи викладене, метою даної роботи є дослідження властивостей «організованого середовища», яке утворюється катіонним поліелектролітом ВПК-402 у водному розчині методами віскозиметрії, титрування та іонометрії.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для приготування досліджуваних розчинів ПЕ ВПК-402 використовували дистильовану воду, які готували з 25%-вої промислової емульсії (ГУ 01-2-88 СЗП АТ «Каустик») розведенням до необхідної для роботи концентрації (робоча концентрація розчину 300мг/дм<sup>3</sup>). Також застосовували водний розчин органічного барвника бром фенолового синього (БФС) з концентрацією 0,1%.

Вплив природи аніону (катіону) на поглинаючу здібність поліелектроліту та на оптичну густину асоціату ВПК-402 – БФС досліджували додаванням розчинів відповідних солей з концентрацією 0,1 М ( $NaCl$ ;  $NH_4Cl$ ;  $MgCl_2$ ;  $CaCl_2$ ;  $AlCl_3$ ;  $FeCl_3$ ;  $Na_3PO_4$ ;  $Na_2SO_4$ ;  $NaNO_3$ ), які готували з чистих солей марки ч. д. а.

У процесі віскозиметричних досліджень визначали приведену в'язкість розчину ПЕ; залежності в'язкості водних розчинів ПЕ від іонної сили розчинів (концентрації  $NaCl$  в діапазоні  $I = 0,0025 \div 0,5$  М); молекулярну масу ВПК-402 [8]. Вимір в'язкості розчинів ПЕ здійснювали за допомогою віскозиметра Оствальда, з діаметром капіляру  $d=0,34$  мм. В'язкісні властивості розчинів ПЕ ( $0,05 \div 1,5$  дл/г) оцінювали за величинами відносної, приведеної та характеристичної в'язкості, що вимірювали при температурі  $293 \pm 1$  К.

Для проведення іонометричного титрування водних розчинів ВПК-402 застосовували 0,1М розчини  $NaOH$  і  $HClO_4$ . В якості електродів використовували: скляний – марки ЕЛС- 45-11, хлорид-срібний – марки ЕВЛ-1М4 та іонселективний – марки ЕЛІС-131СІ. Потенціометричний вимір проводили за допомогою рН-метрів типу рН-150 і рН-121.

Електронні спектри поглинання знімали на спектрофотометрах *Specord UV VIS* (в області 230÷700 нм), СФ-26 (при 620 нм) у скляних кюветах завтовшки 1 см відносно дистилату, на якому готувались досліджувані розчини.

Одним з необхідних етапів вивчення системи «поліелектроліт–вода», є одержання відомостей про гідродинамічні, конформаційні та молекулярні характеристики ПЕ у розведених розчинах. При розчиненні ПЕ у воді відповідної концентрації утворюються істинні розчини полімерів, які завдяки великим розмірам

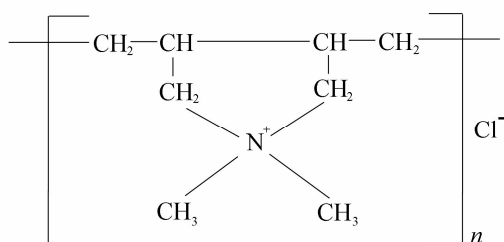


макромолекул мають свої особливості, що відрізняють їх від істинних розчинів низькомолекулярних речовин. Такими особливостями є набрякання, що передують розчиненню, висока в'язкість, повільна дифузія та нездатність молекул проникати через напівпроникні мембрани.

При дисоціації катіонних ПЕ утворюються полівалентні позитивно заряджені макроіони й прості неорганічні аніони. Залежно від хімічної структури полімеру, його молекулярної маси, наявності в ланцюжку тих або інших полярних груп, вмісту у воді неорганічних іонів, а також від відстані між окремими макромолекулами і їхньої взаємної орієнтації ПЕ можуть мати різні розміри та форму (конформацію) [2, 8]. Розмір молекул ПЕ залежить від кількості дисоційованих груп. Зі збільшенням ступеня дисоціації підсилюється відштовхування заряджених ланок полімеру між собою, і макромолекула збільшується в розмірі. Найбільш зручним експериментальним методом для оцінки конформаційного стану макромолекул полімерів у розчині є віскозиметрія [3, 8].

При дослідженні в'язкості розчинів полімерів, крім безпосередньо вимірюваної динамічної в'язкості  $\eta$ , використовують похідні від цієї величини - приведену й характеристичну в'язкості. Останні дають уявлення про набрякання полімеру і які можна розглядати як гідродинамічний об'єм, що займає в молекулярному клубку одиниця маси полімеру й пов'язана з полімером вода.

У цьому зв'язку було вивчено в'язкісні властивості розчинів гнучколанцюгового катіонного ПЕ ВПК-402, структурну формулу елементарної ланки якого наведено нижче:



Методом віскозиметрії визначили молекулярну масу ВПК-402, яка дорівнює  $2,88 \cdot 10^5$ , середня кількість елементарних ланок – 1783.

На в'язкість розчинів ПЕ впливають кількість і ступінь дисоціації іоногенних груп, фактори, що визначають розмір макромолекул і вміст у них низькомолекулярних електролітів. Зі збільшенням характеристичної в'язкості полімеру відбувається різке збільшення гідродинамічного об'єму макромолекул у розчині, що є одним з факторів, які визначають ефективність їхнього застосування в процесах водоочищення [5, 7].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Характерною рисою водних розчинів іоногенних ПЕ є нелінійне збільшення в'язкості їхніх розчинів з розведенням (поліелектролітний ефект). Це обумовлено тим, що розведення розчину приводить до збільшення об'єму, у якому розподіляються протіони, внаслідок чого зменшується екранування фіксованих зарядів полііонів, зростає їхнє взаємне відштовхування та відбувається розгортання клубків макромолекул, збільшення їхніх лінійних розмірів і набрякання полііона.

Цей ефект можна зменшити або повністю виключити, вводячи в розчини низькомолекулярні електроліти. Залежність приведеної в'язкості ПЕ ВПК-402 від концентрації при різній іонній силі ілюструє Таблиця 1.

**Таблиця 1.**  
**Залежність приведеної в'язкості ПЕ ВПК-402 ( $\eta_{пр}$ ) від концентрації ( $C_{PE}$ ) при різній іонній силі ( $\mu$ )**

$C_{PE} \cdot 10^3$ , кг/м <sup>3</sup>	$\eta_{пр} \cdot 10^{-1}$ , м <sup>3</sup> /кг				
	$\mu=0$	$\mu=0,01$	$\mu=0,1$	$\mu=0,2$	$\mu=0,5$
0,05	8,6	4,7	1,6	0,9	0,3
0,10	6,8	4,2	1,5	0,7	0,3
0,20	4,2	3,7	1,2	0,7	0,3
0,25	3,8	3,5	1,1	0,8	0,3
0,30	3,7	3,2	1	0,8	0,3
0,40	3,2	2,7	1,3	0,8	0,4
0,50	3,1	2,7	1,4	0,8	0,3
0,60	3	2,7	1,5	0,8	0,4
0,70	2,9	2,7	1,6	0,8	0,4
0,75	3	2,8	1,7	0,8	0,4
0,80	3,2	2,8	1,7	0,8	0,4
1,00	3,6	3,2	2	0,8	0,4
1,20	4,1	3,7	2,5	0,9	0,4
1,25	4,2	3,8	2,6	1	0,4
1,50	4,8	4,3	2,8	1,3	0,4

Збільшення солевмісту водних розчинів ПЕ супроводжується зменшенням ступеня дисоціації їх іоногенних груп і зниженням в'язкості розчинів. При цьому залежності приведеної в'язкості від розведення набувають практично лінійний вигляд, характерний для неіоногенних полімерів. При збільшенні іонної сили розчину в'язкість спочатку швидко зменшується, а потім залишається постійною. Відбувається ослаблення електростатичної взаємодії через збільшення асоціації протиіонів з полііоном. Четвертинні атоми азоту ВПК-402 блокуються хлорид-іонами, а полікатион додатково укладається в клубочні структури, при цьому значно зменшуються гідродинамічні розміри макромолекул.

Для уточнення властивостей «організованого середовища» було досліджено поглинання розчинів ВПК-402 ( $1 \cdot 10^{-7}$  моль/дм<sup>3</sup>) в УФ-області в залежності від значень  $pH$ , температури, типів фонового електроліту. При зменшенні кислотності середовища до  $pH$  5 поглинання ПЕ дещо збільшується (рис.1), що пов'язано з його структурною конформацією при відповідних значеннях  $pH$ . При зменшенні  $pH$  спостерігалось згортання ПЕ в більш компактні структури, а при його збільшенні – навпаки – розгортання полімерних ланцюгів. Подібна залежність простежується і при зміні температури від 20 до 60°C.

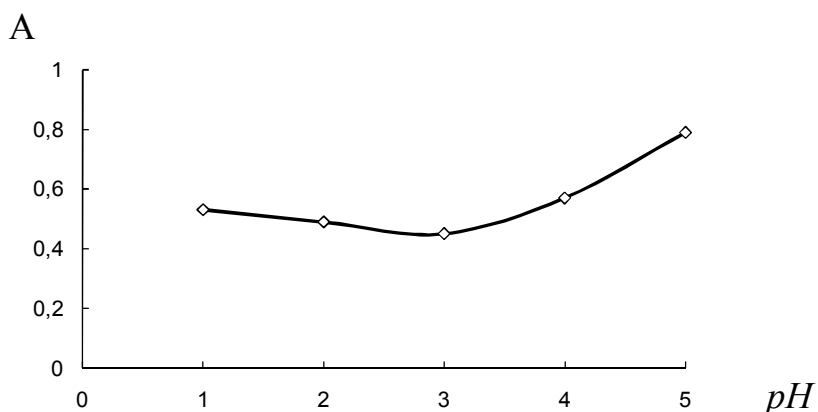


Рис. 1. Залежність поглинання розчинів ВПК-402 ( $1 \cdot 10^{-7}$  моль/дм<sup>3</sup>) в УФ-області від  $pH$  ( $\lambda=350$  нм).

Дослідження поглинання розчину ВПК-402 ( $1 \cdot 10^{-7}$  моль/дм<sup>3</sup>) в залежності від присутності в ньому різних за природою аніонів показало, що найбільший вплив на конформаційний стан ПЕ мають однозарядні іони (хлориди та нітрати), рис. 2. На нашу думку, це пов'язано з їхньою геометрією, оскільки розміри гідратованих іонів  $NO_3^-$  та  $Cl^-$  значно менше ніж  $PO_4^{3-}$  та  $SO_4^{2-}$  і дорівнюють всього 3 та 4 Å відповідно [6].

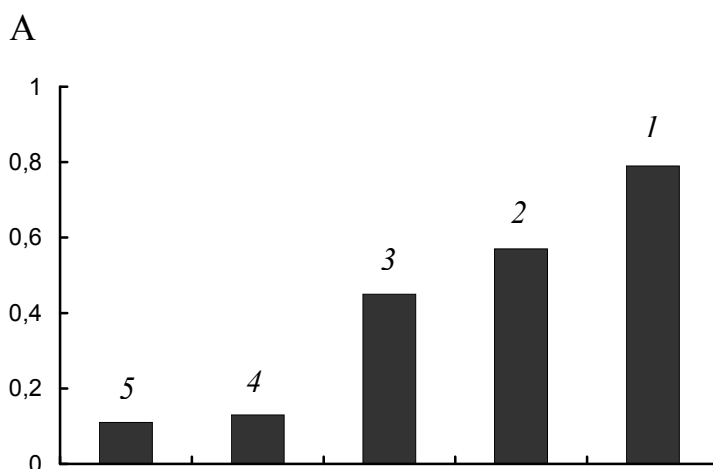


Рис. 2. Залежність впливу природи аніону на поглинання розчину ВПК-402 (1) 2 –  $PO_4^{3-}$ ; 3 –  $SO_4^{2-}$ ; 4 –  $NO_3^-$ ; 5 –  $Cl^-$ ;  $C_{\text{ВПК-402}}=1 \cdot 10^{-7}$  моль/дм<sup>3</sup>;  $C(\text{солі})=0,1$  моль/дм<sup>3</sup>

Можна припустити, що з розведенням розчину ПЕ, останній частково гідролізується, на це вказує зниження величини рН його розчинів. При титруванні розчину ВПК-402 0,1 М  $NaOH$  рН різко збільшувалося від 6 до 10, а далі – повільно й незначно. Це відбувається за значної ролі впливу щільності заряду в процесі іонного обміну, оскільки у  $OH^-$  іону вона більш висока в порівнянні з  $Cl^-$  іоном.

Таким чином, властивості «організованого середовища» – розчинів катіонних ПЕ в значній мірі залежить від іонного оточення, рН середовища, температури. Відомо, що на конформацію ПЕ впливають також гідрофобні взаємодії, які в певних умовах стають переважним чинником, що контролює стан макромолекул у розчині. В значній мірі впливають на поведінку макромолекул у розчинах також і різного роду міжмолекулярні взаємодії, які залежать від природи й полярності органічного розчинника.

При додаванні до розчину ВПК-402 спиртів ( $CH_3OH$  і  $C_2H_5OH$ ) помітних розходжень у системах не спостерігалось, а поступове зниження значення рН підтверджує те, що, молекули органічного розчинника сприяють розгортанню макромолекул ПЕ, і при цьому звільнюються хлорид-іони, а відповідно, знижується значення  $pCl$ . В зв'язку з цим, були проведені дослідження з іонометричного титрування 0,1 М розчином  $HClO_4$  систем: спирт – водний розчин ВПК-402, Рис. 3. При цьому використовували хлорид-срібний електрод, оскільки дозволено застосовувати гетерогенні осадкові мембранні електроди для вимірювань у водно-етанольних та водно-метанольних спиртових розчинах.

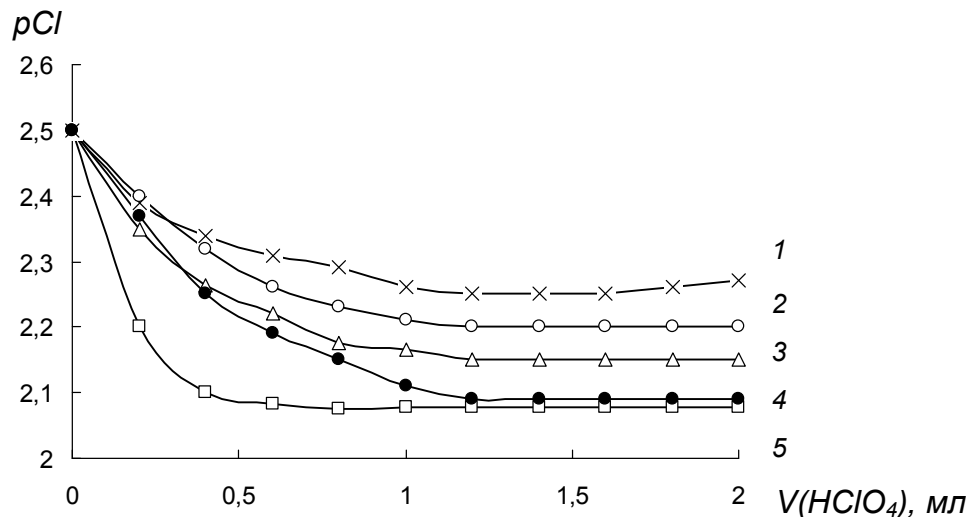


Рис. 3 Залежності іонометричного титрування 20 мл  $1 \cdot 10^{-6}$  М розчину ВПК-402 (кр.1) у присутності метанолу (5 мл – кр.2; 10 мл – кр.4) і етанолу (5 мл – кр.3; 10 мл – кр.5) 0,1 М розчином  $HClO_4$ .

Як видно з Рис. 3, присутність у розчині спирту викликає гідрофобну взаємодію між його вуглеводневим радикалом і гідрофобними фрагментами макромолекул

полііона, тим самим здійснюючи так зване «набрякання» макроіона і його розгортання, за рахунок гідрофілізуючої дії молекул спиртів по відношенню до макромолекули ПЕ. З нашої точки зору найбільш вірогідними ділянками макромолекули, яка гідрофілізується можуть бути диметильні групи, що безпосередньо зв'язані з четвертинним атомом нітрогену.

Причому у випадку з етанолом – в більшому ступені, відповідно до величини його вуглеводневого радикалу. У свою чергу,  $Cl^-$  іони стають більш доступними для обміну з іонами  $ClO_4^-$ , що й підтверджує зменшення значення  $pCl$  (рис. 3).

Найбільш поширеним методом кількісного визначення катіонних ПЕ є спектрофотометричний, в основі якого покладено здібність полімерних катіонних ПАР при взаємодії з аніонними барвниками утворювати стійкі іонні асоціати, які поглинають у видимій області спектра. Для визначення ВПК-402 застосовують сульфогфталейновий реагент – бромфеноловий синій, який утворює з ПЕ іонний асоціат складу 1:1.

Оскільки зв'язування аніонних барвників полікатіонами обумовлено як електростатичними, так і гідрофобними взаємодіями, тому зовнішні фактори, що впливають на конформацію ПЕ (іонна сила, склад розчинника, іонізація), діють на процес зв'язування, підсилюючи або послаблюючи його. Механізм взаємодії включає електростатичне притягання аніонів БФС до катіонних ділянок поліоснови та гідрофобну взаємодію неполярних частин полімеру і барвника.

Було досліджено вплив різних неорганічних солей на чутливість фотометричної реакції ВПК-402 із БФС. Вивчався вплив іонів – основних складових природних вод, ( $Cl^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) у вигляді відповідних солей.

Більшою мірою впливають на значення оптичної густини однозарядні аніони (рис. 4). Вплив хлорид– та нітрат–іонів можна пояснити невисокою щільністю заряду й малою здатністю поляризуватися, це підтверджується наведеними раніше результатами досліджень поглинання ВПК-402 у їх присутності. Залежності, що представлено на рис. 4, свідчать про те, що аніони знижують чутливість фотометричної реакції, оскільки зміщують рівновагу реакції гідролізу ПЕ у бік неіонізованої форми, а отже, послаблюється взаємодія ПЕ з реагентом.

Аніони, нейтралізуючи заряди уздовж ланцюга полімеру, призводять до згортання молекул у клубки, зменшення гідродинамічного об'єму, тому більша частина функціональних груп стає недосяжною для взаємодії. У найменшому ступені впливають фосфати, що пояснюється їхніми розмірами – більшим частинкам складніше проникнути крізь гідратну оболонку до полікатіона, а також можливим їхнім гідролізом, що супроводжується збільшенням рН.

Під дією катіонів оптична густина асоціату ВПК-402 – БФС зменшувалась зі збільшенням щільності заряду іона. При цьому багатозарядні протиіони можуть асоціювати із двома або декількома функціональними групами ПЕ з утворенням внутрішньоланцюгових сольових містків, що призводить до додаткового скручування макромолекули. При введенні в розчин поліелектроліту ВПК-402 солей  $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $AlCl_3$  та  $FeCl_3$ , значення оптичної густини асоціату знижується, а у

випадку з розчинами двох останніх (при  $C(\text{солі}) \geq 0,03$  моль/ дм<sup>3</sup>) спостерігалось утворення осаду.

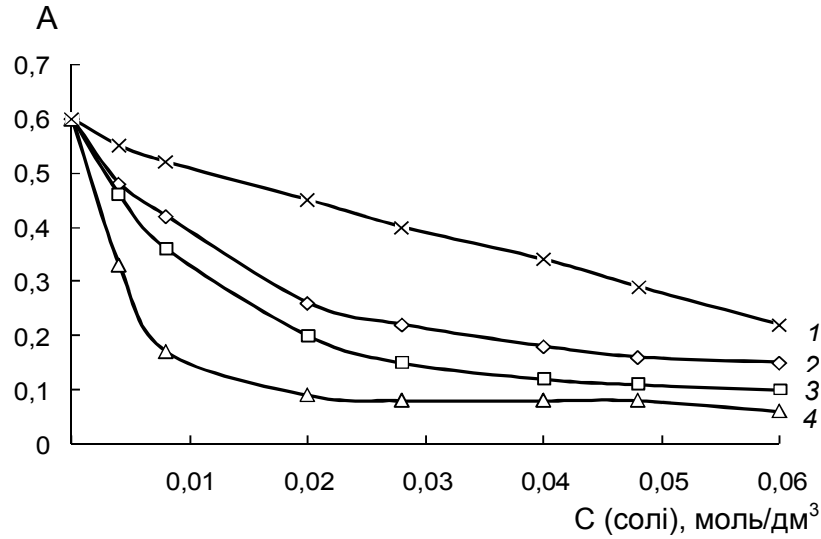


Рис. 4 Залежність оптичної густини асоціату ВПК-402 – БФС від молярної концентрації неорганічної солі (аніони):

1 –  $Na_3PO_4$ ; 2 –  $Na_2SO_4$ ; 3 –  $NaCl$ ; 4 –  $NaNO_3$ ;

$C_{\text{ВПК-402}} = 1 \cdot 10^{-8}$  моль/ дм<sup>3</sup>;  $V(C_2H_5OH) = 3$  мл

Було досліджено вплив етанолу на чутливість фотометричної реакції ВПК-402 із БФС (рис. 5). При введенні в розчин етилового спирту, з об'ємною часткою до 25%, стійкість асоціату, що утворився, й значення оптичної густини підвищувалися. При наступному збільшенні об'ємної частки спирту спостерігалось зниження оптичної густини розчину. Це обумовлено зміною характеру ближніх електростатичних взаємодій у ланцюгах ПЕ. Зниження діелектричної проникності розчинника повинне збільшувати відштовхування фіксованих зарядів і розвертати полііон. Однак цей ефект перекривається асоціацією протиіонів з полііоном, яка підсилюється, внаслідок зменшення діелектричної проникності розчинника. Таке поведіння системи змішаний розчинник – ПЕ можна пояснити таким чином: спочатку, при малому вмісті в суміші, органічний розчинник викликає набрякання макромолекулярного ланцюга й зменшення електростатичних взаємодій однойменно заряджених ланок макроіона. Подальше збільшення частки етилового спирту в суміші знижує діелектричну проникність розчинника, сприяючи тим самим асоціації протиіонів з макроіоном. Присутність молекул спирту навіть у невеликій кількості в змішаному розчиннику вода-спирт послабляє гідрофобні взаємодії в ланцюгах ВПК-402 і розвертає макромолекулярні клубки. Це, у свою чергу, перешкоджає утворенню навколо зв'язаних молекул БФС гідрофобного оточення, яке створюють неполярні частини макромолекул поліоснови.

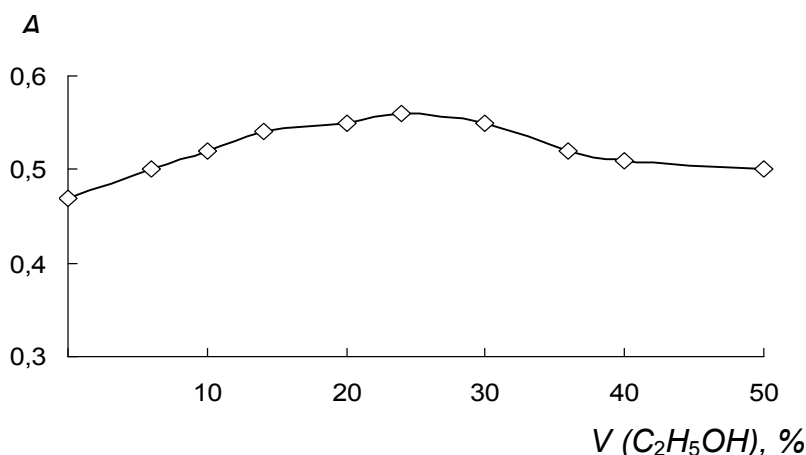


Рис. 5. Залежність зміни чуттєвості фотометричної реакції ВПК-402 із БФС від об'ємної частки етанолу.

Таким чином, етанол, створює сприятливе гідрофобне оточення для молекул БФС і добре сольватує молекули полі основи, збільшуючи тим самим стійкість асоціату.

### ВИСНОВОК

Отже, істотно впливає на властивості «організованого середовища» присутність в системі «поліелектроліт-вода» неорганічних електролітів (іонна сила). Визначено, що в більшому ступені серед аніонів на поведінку полімеру впливають однозарядні іони, що пов'язано з їхньою геометрією, в той же час, серед катіонів – багатозарядні. Також суттєвим є наявність органічного розчинника в системі «поліелектроліт-вода», саме він сприяє розгортанню макромолекул внаслідок їх гідрофілізації. З урахуванням наведеного вище відмічені фактори впливають на процес зв'язування полікатіонів аніонними барвниками, і відповідно на їх кількісне визначення. Взагалі, можна констатувати, що електростатичні сили є основними, які обумовлюють комплексоутворення полікатіонів з аніонами барвника, а гідрофобні сили стабілізують іонний комплекс, котрий утворюється.

### Список літератури

1. Нанохімія. Наносистеми. Наноматеріали. / [Волков С.В., Ковальчук Є.П., Огенко В.М., Решетняк О.В.] – К.: Наук. думка, 2008. – 422 с.
2. Гандурина Л.В. Органические флокулянты в технологии очистки природных и промышленных сточных вод и обработки осадка / Гандурина Л.В. – Инженерное обеспечение объектов строительства: Обзорная информация. – ВНИИТПИ. – М., 2000. – Вып.2. – 59 с.
3. Гандурина Л.В. Характеристики синтетических флокулянтов, применяемых для очистки сточных вод / Гандурина Л.В. // Вода и экология. – 2006. – №1. – С. 40–52.

4. Дедков Ю.М. Оптические методы определения катионных флокулянтов и поверхностно активных веществ в водах / Ю.М. Дедков, Т.В. Антонова, В.И. Вершинин // Заводская лаборатория. – Т. 70, № 1. – 2004. – С. 3–9.
5. Особенности глубокой очистки нефтесодержащих сточных вод / Н.В. Кулалаева, А.Н. Чеботарев, В.А. Михайлюк [и др.] // Вісник Одеського Національного університету. – 2006. – Т. 11, вып. 2. – С. 121–129.
6. Лайтинен Г.А. Химический анализ. / Лайтинен Г.А. – М.: Химия, 1966. – 656 с.
7. Применение флокулянта ВПК 402 на водопроводе г. Ростов на Дону. ВСТ / [Михайлов В.А., Бутко А.В., Лысов В.А. и др.] // Водоснабжение и санитарная техника. – 1997. – № 7. – С. 15.
8. Практикум по химии и физике полимеров: учеб. изд. / Н.И. Аввакумова, Л.А. Бударина, С.М. Дивгун и др.; под ред. В.Ф. Куренкова. – М.: Химия, 1990. – 304 с.
9. Поверхностно-активные вещества и полимеры в водных растворах / [К. Холмберг, Б. Йёнссон, Б. Кронберг, Б. Линдман]; пер. с англ. Г.П. Ямпольской. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 528 с.
10. Штыков С.Н. Организованные среды – мир жидких наносистем / С.Н. Штыков // Природа. – № 7. Химия. – 2009. – С. 9–14.
11. Штыков С.Н. Организованные среды – стратегия, основанная на принципах биоподобия в аналитической химии / С.Н. Штыков // Вісник ХНУ. – 2000. - № 495, Вып. 6(29). – С. 9–14.

**Кулалаева Н.В. Определение свойств «организованной среды» при исследовании системы «полиэлектролит–вода» / Н.В. Кулалаева // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 375–384**  
Методами ионометрии, вискозиметрии, спектрофотометрии исследованы свойства «организованной среды», образованной катионным полиэлектролитом ВПК-402 в водном растворе, а также влияние на него природы среды, ионной силы растворов, типов фонового электролита, температуры. Показано, что существенно влияют на его поведение в растворе неорганические электролиты, органический дипольный растворитель, гидрофилизующий макромолекулы полиэлектролита. Исследовано действие перечисленных факторов на процесс связывания поликатионов анионными красителями при их количественном определении в системе «полиэлектролит–вода».

**Ключевые слова:** «организованная среда», система «полиэлектролит–вода», катионный полиэлектролит, гидрофилизация, конформационное состояние.

**Kulalayeveva N.V. Determination the properties of "organized media" during the research of the "polyelectrolyte–water" system / N.V. Kulalayeveva // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 375–384.**

By the methods of ionometry, viscosimetry, spektrofotometry the properties of "organized media", which is formed by cationic polyelectrolyte VPK-402 in water solution and the impact of nature media, ionic strength of solutions, type of a base electrolyte, temperature on it have been researched. It has been shown that inorganic electrolytes, organic bipolar solvent, which does hydrophilization of the polyelectrolyte macromolecules, exercise a significant influence on its behavior in a soluble. An effect that mentioned factors have on a process of connecting polycation by anionic dyes with their quantifications in the "polyelectrolyte–water» system has been researched.

**Keywords:** "organized media", in the "polyelectrolyte–water» system, cationic polyelectrolyte, hydrophilization, confirmatory condition.

*Поступила в редакцию 20.05.2011 г.*



УДК 547.551.54 +547.553 + 547.785.51

## СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 1-АЛКИЛ-2-АМИНОАЛКИЛБЕНЗИМИДАЗОЛА

Поддубов А.И., Цикалов В.В., Баевский М.Ю.

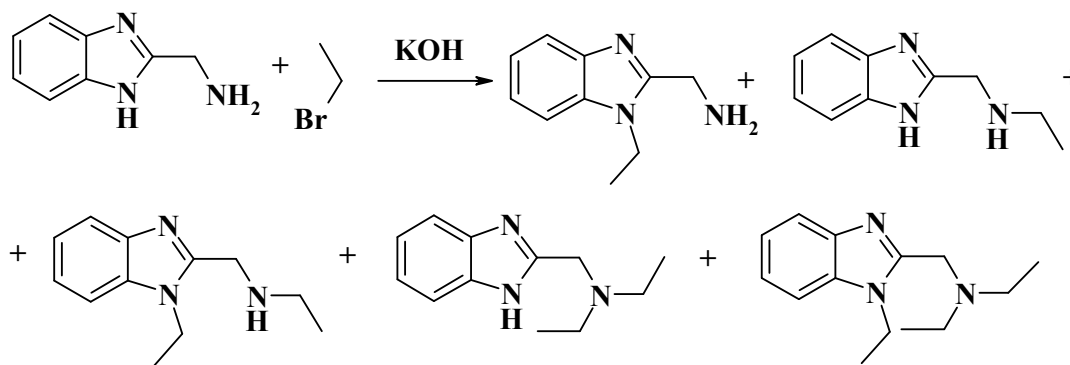
Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: b\_m\_y@mail.ru

Разработана новая схема синтеза получения производных 1-алкил-2-аминоалкилбензимидазолов. Данная схема основана на нуклеофильном замещении галогена в *o*-нитрогалогенпроизводных бензола на аминоалкильный радикал. После чего синтезированное соединение восстанавливают гидразингидратом до соответствующего *N*-алкил-*o*-фенилендиамина и конденсируют по Филипсу с рядом аминокислот. Строение синтезированных соединений подтверждено данными ПМР-спектроскопии.

**Ключевые слова:** *o*-нитрохлорбензол, алкиламин, карбоновая кислота, конденсация, алкилирование, бензимидазол.

### ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее распространенных способов получения 1-замещенных бензимидазолов является алкилирование производных бензимидазола различными алкилирующими агентами в различных условиях. Тем не менее, данный метод не всегда применим, особенно в случае наличия в базовой структуре альтернативных нуклеофильных групп. Так, при алкилировании 2-аминоалкилбензимидазолов в классических условиях помимо образования *N*-алкильных производных происходит также атака по азоту аминогруппы, что приводит к образованию трудноразделимой смеси продуктов реакции, включающей в себя продукты алкилирования по азоту бензимидазольного цикла, а так же производные, замещенные по азоту боковой цепи бензимидазольного цикла. Аналогичные результаты получаются при алкилировании натриевых солей соответствующих бензимидазолов.



## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР получены на приборе Varian VXR-300 (300 МГц), внутренний стандарт -  $\text{Me}_4\text{Si}$ . Приведены химические сдвиги ( $\delta$ -шкала).

**N-алкил-*o*-нитроанилин.** В реактор загружают 157,5 г (1 моль) *o*-нитрохлорбензола, 138 г (1 моль)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 1,2 моль первичного амина и 100 мл  $\text{H}_2\text{O}$  и выдерживают в термостате при 120-130 °С в течение 24 часов. После охлаждения реакционную массу сливают декантацией с выпавших солей. Отделяют в делительной воронке N-алкил-*o*-нитроанилин, промывают его водой (200 мл) и перекристаллизовывают из этилового спирта или перегоняют в вакууме, в зависимости от физических свойств полученного производного.

**N-алкил-*o*-фенилендиамин.** В трехгорлую круглодонную колбу емкостью 1 л, снабженную мешалкой, обратным холодильником и капельной воронкой, помещают 1 моль N-алкил-*o*-нитроанилина и 300 мл пропанола-2. Колбу нагревают на кипящей водяной бане, вносят предварительно подготовленный никель Ренея и из капельной воронки медленно прибавляют 150 мл 85%-ного гидразингидрата. После прибавления всего количества гидразингидрата смесь продолжают нагревать на водяной бане до обесцвечивания пены, что свидетельствует об окончании восстановления. Раствор декантируют с катализатора, кипятят с активированным углем и отгоняют избыток спирта.

**1-алкил-2-аминоалкилбензимидазол.** В литровой круглодонной колбе с обратным холодильником кипятят 1 моль N-алкил-*o*-фенилендиамина и 1 моль аминокислоты в 300 мл концентрированной соляной кислоты в течение длительного времени (от 48 до 96 часов в зависимости от строения используемой аминокислоты). По окончании реакции (контроль ТСХ – отсутствие исходного *o*-фенилендиамина в реакционной среде) соляную кислоту упаривают досуха, полученный дигидрохлорид кристаллизуют из этанола или пропанола-2.

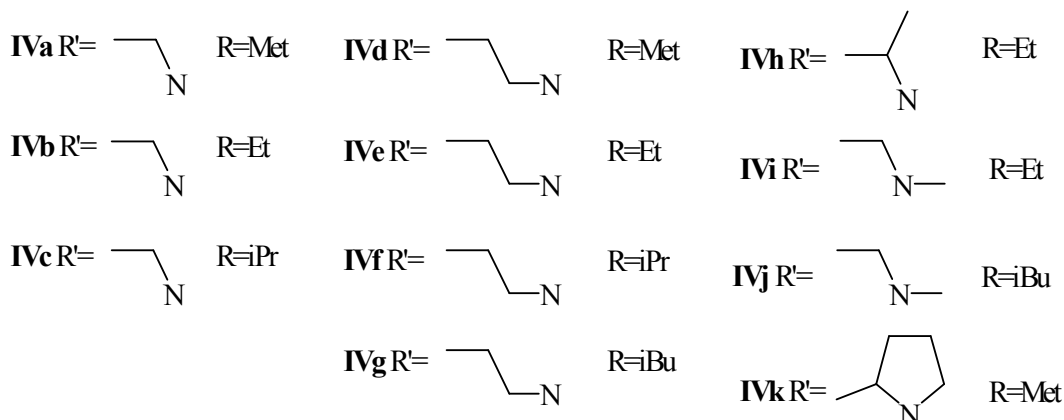
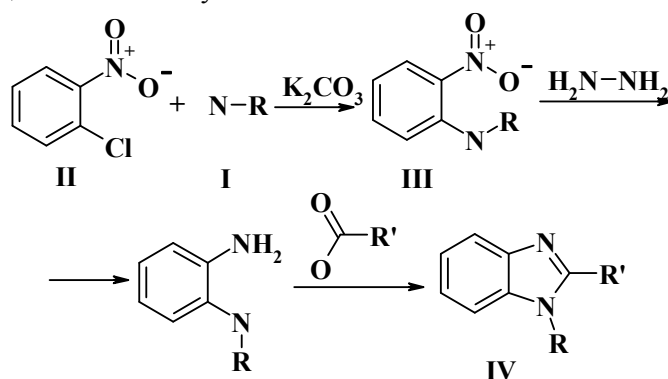
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее оптимальным методом получения 1-алкил-2-аминоалкилбензимидазолов является схема синтеза, основанная на предварительном синтезе N-замещенных *o*-фенилендиаминов с последующей конденсацией синтезированного продукта с соответствующей аминокислотой [1]. Прямое алкилирование *o*-фенилендиамина галогеналканами по Гофману приводит к образованию трудноразделимой смеси моно-, ди- и полиалкилзамещенных фенилендиаминов, выделение из которой моноалкилированного продукта с высоким выходом технически сложно. С целью решения данной проблемы нами была разработана схема синтеза N-алкил-*o*-фенилендиаминов, включающая стадии конденсации различных первичных аминов (I) с *o*-хлорнитробензолом (II) [2] и последующим восстановлением полученных N-алкил-*o*-нитроанилинов (III) гидразингидратом в присутствии никеля Ренея [3]. Синтезированные N-алкил-*o*-фенилендиамины конденсировали с соответствующими аминокислотами двумя способами:

- сплавлением гидрохлоридов аминокислот в присутствии метаборной кислоты при 140 °С;

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 1-АЛКИЛ-2-АМИНОАЛКИЛБЕНЗИМИДАЗОЛА

- конденсацией по Филиппу в 4N соляной кислоте.



В первом случае была получена трудноразделимая смесь продуктов конденсации, выделить из которой целевой бензимидазол не представлялось возможным. Одним из недостатков в случае конденсации в 4N соляной кислоте являлась длительность процесса (около 72 часов), однако данный метод оказался единственным, дающим удовлетворительные результаты. Выходы синтезированных продуктов реакции представлены в Таблице 1

Таблица 1.

Выходы продуктов реакции.

Соединение	IVa	IVb	IVc	IVd	IVe	IVf	IVg	IVh	IVi	IVj	IVk
Выход, %	82	76	79	80	78	76	68	74	75	75	82

Строение синтезированных соединений подтверждено данными ПМР спектроскопии Таблицы 2, 3

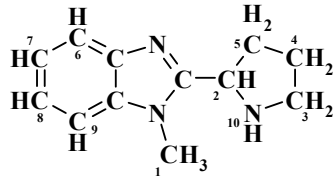
Таблица 2.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектры соединений IVa-j (растворитель DMSO-d<sub>6</sub>).

Группа или атом	Соединение									
	IVa	IVb	IVc	IVd	IVe	IVf	IVg	IVh	IVi	IVj
<b>R</b>										
CH <sub>3</sub>	4.05с	–	–	4.03с	–	–	–	–	–	–
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	–	4.61дд	–	–	4.57дд	–	–	4.53дд	4.55дд	–
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	–	1.42т	–	–	1.42т	–	–	1.40т	1.39т	–
CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	–	–	5.00к	–	–	5.22к	–	–	–	–
CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	–	–	1.63д	–	–	1.69д	–	–	–	–
CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	–	–	–	–	–	–	4.35д	–	–	4.24д
CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	–	–	–	–	–	–	2.19к	–	–	2.16к
CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	–	–	–	–	–	–	0.96д	–	–	0.90д
<b>R'</b>										
NH <sub>2</sub>	9.32с	9.42с	9.15с	8.63с	8.68с	8.69с	8.62с	9.29с	10.21с	9.97с
CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	4.61с	4.61с	4.60с	–	–	–	–	–	–	–
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	–	–	–	3.42т	3.46т	3.40т	3.45т	–	–	–
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	–	–	–	3.65т	3.69т	3.75т	3.67т	–	–	–
CH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>3</sub>	–	–	–	–	–	–	–	5.09м	–	–
CH(NH <sub>2</sub> )CH <sub>3</sub>	–	–	–	–	–	–	–	1.74д	–	–
CH <sub>2</sub> NHCH <sub>3</sub>	–	–	–	–	–	–	–	–	4.74с	4.67с
CH <sub>2</sub> NHCH <sub>3</sub>	–	–	–	–	–	–	–	–	2.75с	2.75с
<b>Ar</b>										
C4	7.91м	7.97м	7.99м	7.95м	8.01м	8.10м	8.00м	7.88м	7.91м	7.83м
C5,6	7.53м	7.56м	7.43м	7.58м	7.58м	7.55м	7.56м	7.49м	7.50м	7.41м
C7	7.83м	7.85м	7.79м	7.80м	7.82м	7.84м	7.81м	7.80м	7.82м	7.77м

Таблица 3.

<sup>1</sup>H ЯМР-спектр соединения IVk (растворитель DMSO-d<sub>6</sub>)

	Номер атома	Хим. сдвиг(м.д.), мультиплетность
		1
	2	5.25д
	3	3.40с
	4	2.09м, 2.21м
	5	2.54м
	6	7.45м
	7	7.79м
	8	7.79м
	9	7.45м
	10	9.81с

### ВЫВОДЫ

1. Изучена реакция конденсации *o*-хлорнитробензола с различными первичными аминами.

2. Разработана новая схема синтеза получения ряда 1-алкил-2-аминоалкил-бензимидазолов, позволившая получить ранее недоступные производные бензимидазола.

#### Список литературы

1. Пожарский А.Ф. Успехи химии имидазолов / А.Ф. Пожарский, А.М. Симонов, А.Д. Тарновский // Успехи химии. – 1966. – Т.35. – №2. – С.271
2. Zhu Y-F. New Modified Preparation of 2-Nitrodiarylaminines / Y-F Zhu, G-Q Lin, Y-Q.J. Chen // Synthesis [SYNTBF], 1990 – P. 430.
3. K.S. Sharma Condensed Heterocycles; XI. Synthesis of 1,2,5-Thia(selena)diazolo[3,4-b]quinolines and 1,2,5-Thia(selena)-diazolo[3,4-h]quinolines / K.S. Sharma, Sharda Kumari, Ram Phul Singh. // J. Synthesis, 1981 – № 4 – P. 316-318

**Поддубов О.І. Синтез похідних 1-алкил-2-аміноалкил-бензімідазолу / О.І. Поддубов, В.В. Цикалов, М.Ю. Баєвський // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 385-389.**

Вивчена реакція здобуття похідних 1-алкил-2-аміноалкилбензімідазолов. Розроблен засіб синтезу заснований на нуклеофільном заміщенні галогену в о-нітрогалогенпроїзводних бензолу на аміноалкільний радикал з подальшим відновленням синтезованого з'єднання гидразінгідратом до відповідного N-алкилфенілендіаміну та конденсуванню його по Філіпсу з рядом амінокислот. Будова синтезованих сполук підтверджена методами ПМР-спектроскопії.

**Ключові слова:** о-нітрохлорбензол, алкіламін, карбонова кислота, конденсування, алкилювання, бензімідазол.

**Poddubov A.I. Synthesis of derivatives of 1-alkyl-2-aminoalkylbenzimidazole / A.I. Poddubov, V.V. Tsikalov, M.U. Baevsky // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 385-389.**

A new scheme of synthesis of obtaining derivatives of 1-alkyl-2-aminoalkyl-benzimidazoles is develop. This scheme is based on nucleophilic substitution of halogen in the o-benzene at nitrohalogen derivatives aminoalkyl radical. After that, the synthesized compound regains hydrazine to the corresponding N-alkyl-o-phenylenediamine and condensed by Phillips with a number of amino acids. The structure of the synthesized compounds were confirmed by NMR spectroscopy.

**Keywords:** o-nitrochlorobenzene, alkylamine, carboxylic acid, condensation, alkylating, benzimidazole.

*Поступила в редакцію 24.05.2011 г.*

УДК 582.573.16:581.192

## СТРОЕНИЕ ОСНОВНОГО СТЕРОИДНОГО ГЛИКОЗИДА СОЦВЕТИЙ *ALLIUM CYRILLII* (ALLIACEAE)

Толкачева Н.В.<sup>1</sup>, Зайцев Г.П.<sup>2</sup>, Качала В.В.<sup>3</sup>, Гришкова В.И.<sup>4</sup>, Чирва В.Я.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, Ялта, Украина

<sup>2</sup>Национальный институт винограда и вина «Магарач», Ялта, Украина

<sup>3</sup>Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия

<sup>4</sup>Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, Симферополь, Украина

E-mail: [tolkacheva\\_n@mail.ru](mailto:tolkacheva_n@mail.ru)

В результате исследования стероидных гликозидов соцветий лука Кирилла (увеличенного) *Allium cyrillii* Ten. выделен основной спиростаноловый гликозид. С помощью химических и спектральных методов анализа была установлена структура данного соединения, которое представляет собой 3-O-β-D-ксилопиранозил-(1→3)-[O-β-D-глюкопиранозил-(1→2)]-O-β-D-глюкопиранозил-(1→4)-O-β-D-галактопиранозид-(25R)-5α-спиростан-2α,3β,6β-триол.

**Ключевые слова:** *Allium cyrillii* Ten., стероидные гликозиды.

### ВВЕДЕНИЕ

Стероидные гликозиды являются обширным классом природных соединений из группы сапонинов, которые привлекают внимание исследователей благодаря их широкому спектру биологической активности и экологической безопасности [1].

Известно, что экстракты разных растений, принадлежащих к семействам *Amaryllidaceae*, *Dioscoreaceae*, *Alliaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, которые содержат стероидные гликозиды, используются в традиционной медицине как противоопухолевые, фунгицидные, контрацептивные, антивирусные и цитотоксические средства [2–4]. Известно также, что данные соединения снижают уровень холестерина в крови и обладают антиоксидантным действием [5, 6]. Кроме того, стимуляция роста и фитоиммунитета растений стероидными гликозидами позволяет рассматривать эти вещества как природные адаптогены [7].

Перспективными в плане поиска сапониноносных видов являются растения рода *Allium*, произрастающие в Крыму, тем более, что в литературе данные о стероидных гликозидах большинства крымских луков отсутствуют. Именно поэтому изучение химической структуры стероидных гликозидов представителей семейства *Alliaceae* является актуальным.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования взят основной сапонин, выделенный из соцветий лука Кирилла (увеличенного) *Allium cyrillii* Ten., собранного на северо-восточном склоне горы Парагильмен в 2010 г.

170 г свежесобранных и измельченных соцветий трижды экстрагировали 70%-ным этиловым спиртом. Экстракцию проводили путем нагревания сырья на водяной бане с обратным холодильником в течение трех часов. Полученный экстракт упаривали на роторном испарителе при 50 °С до водного остатка и последовательно обрабатывали хлороформом и *n*-бутиловым спиртом. Бутанольный экстракт упаривали. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили в системах хлороформ-метанол-вода (65:35:7) и хлороформ-метанол (7:3). Для хроматографии использовали силикагелевые пластинки Sorbfil АФ-В, толщина слоя 110 мкм. Хроматограммы опрыскивали реактивом Эрлиха [8] и реактивом Санье [9], после чего нагревали до 120 °С. Кислотный гидролиз выполняли следующим образом: 10 мг чистого гликозида нагревали при 110 °С в 5 мл 1%-ного раствора серной кислоты в этиловом спирте в течении 2-х часов. После охлаждения гидролизат разбавляли водой и извлекали агликон хлороформом. Хлороформные экстракты промывали водой до нейтральной реакции и концентрировали в вакууме до сухого остатка. С помощью ТСХ в системе бензол-этанол 9:1 идентифицировали агликон. Водные слои нейтрализовывали анионитом до нейтральной реакции и упаривали. Сахара идентифицировали в системе бутанол-ацетон-вода 4:5:1.

Колоночная хроматография была проведена с использованием колонки 100 мм с фазой Supelcoclean C18 (150-200 мкм, Supelco). ВЭЖХ разделение проводилось на хроматографе Agilent 1100, оснащенном детектором по светорассеиванию (ELSD) и колонкой Zorbax SB-C18 (150×2.1 мм). ЯМР эксперименты осуществлялись с образцами, растворенными в 0,6 мл дейтеропиридина (400 МГц для <sup>1</sup>H; 100 МГц для <sup>13</sup>C) на приборе Varian AS 400, стандарт – TMS.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из соцветий *A. cyrillii* было выделено 0,11 г хроматографически чистого гликозида. Агликоном после кислотного гидролиза был идентифицирован агигенин. С помощью ТСХ путем сравнения с заведомо известными образцами сахаров были идентифицированы глюкоза, ксилоза и галактоза в соотношении 2:1:1.

В <sup>13</sup>C ЯМР-спектре (табл. 1) представлено 27 сигналов атомов углерода, за исключением сигналов углеводной части: четырех метильных (14,8; 16,3; 17,0; 17,1), девяти метиленовых, одиннадцати метиновых и трех четвертичных (36,8; 40,6; 109,0) атомов углерода. Данные <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C ЯМР-спектров свидетельствуют о том, что соединение является производным ряда спиростана, величина <sup>13</sup>C химического сдвига для атома C-22 равна 109,0 м.д. Величины химических сдвигов C-5 (δ 47,6) C-9 (54,3) и C-19 (17,0) свидетельствуют о *цис*-сочленении колец А и В [1].

Химические сдвиги дублета CH<sub>3</sub>-27, а также двух сигналов метиленовых протонов с δ 3,49 (1H, H-26a и 3,58 (1H, H-26b) однозначно указывают на экваториальную ориентацию CH<sub>3</sub>-27 [1]. Таким образом, агликон относится к спиростанам (25R)-ряда. Кроме того, 25R-конфигурация подтверждается значениями химических сдвигов C-20, C-21, C-23, C-24, C-25 и C-27 в сравнении с литературными данными [10, 11]. 5β-Конфигурация была определена с помощью корреляции между сигналом атома водорода при δ 1,28 м.д. (Me-19) и значениями

сигналов атомов углерода при  $\delta$  (м.д.) 36,8 (C-10), 54,3 (C-9), 47,6 (C-5) и 46,9 (C-1) в двумерном спектре НМВС.

Положение гидроксильных групп в агликонной части гликозида (у C-2 и C-6 атомов) было выполнено путем анализа химических сдвигов сигналов C-атомов в сравнении с литературными данными [12–13] для незамещенных агликонных частей и с учетом значительных положительных  $\alpha$ -эффектов гидроксирования (до 10 м.д.) и небольших, обычно отрицательных,  $\beta$ -эффектов. 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ -Конфигурации определены на основе анализа констант спин-спинового взаимодействия протонов у атомов C-2, C-3 и C-6 с протонами у соседних C-атомов.

Сравнение спектральных данных с литературными [12–15] подтверждает строение агликонной составляющей как (25R)-5 $\alpha$ -спиростан-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ -триол и указывает на замещение по атому C-3 (слабополюный сдвиг с 76,5 м.д. до 84,4 м.д.)

Таблица 1

Химические сдвиги атомов углерода гликозида

С-атом	Химический сдвиг	С-атом	Химический сдвиг
1	46,9	Gal-1'	102,9
2	70,5	2'	72,3
3	84,4	3'	75,3
4	31,7	4'	79,1
5	47,6	5'	75,5
6	69,8	6'	60,4
7	40,5		
8	29,8	Glc-1''	104,4
9	54,3	2''	81,0
10	36,8	3''	86,8
11	21,1	4''	70,2
12	39,9	5''	77,3
13	40,6	6''	62,7
14	56,0		
15	32,0	Glc-1'''	104,5
16	80,9	2'''	75,8
17	62,8	3'''	77,9
18	16,3	4'''	71,2
19	17,0	5'''	78,2
20	41,8	6'''	62,5
21	14,8		
22	109,0	Xyl-1''''	104,7
23	31,6	2''''	74,9
24	29,0	3''''	78,4
25	30,4	4''''	70,3
26	66,6	5''''	67,1
27	17,1		



**СТРОЕНИЕ ОСНОВНОГО СТЕРОИДНОГО ГЛИКОЗИДА СОЦВЕТИЙ...**

В спектре ПМР в области сильного поля четко выделяются сигналы четырех метильных групп:  $\delta$  0,85 (3H, s, Me-18), 1,28 (3H, s, Me-19), 0,69 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, Me-27) и 1,14 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz, Me-21). Также имеются четыре сигнала аномерных протонов:  $\delta$  5,56 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz), 5,24 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz), 5,20 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz) и 4,96 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz). Константы спин-спинового взаимодействия этих сигналов свидетельствуют о  $\beta$ -конфигурации гликозидных связей.

Из анализа  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектров следует, что углеводная цепь у C-3 состоит из остатков четырех сахаров. Химические сдвиги всех протонов четырех углеводных единиц были установлены с помощью комбинации двумерных спектров TOCSY и COSY.  $^{13}\text{C}$ -Химические сдвиги сигналов их соответствующих атомов однозначно отнесены с помощью двумерного спектра HSQC. Эти данные, приведенные в Табл. 2, свидетельствуют о наличии одного остатка  $\beta$ -D-галактопиранозы, одного остатка  $\beta$ -D-ксилопиранозы и двух –  $\beta$ -D-глюкопиранозы.

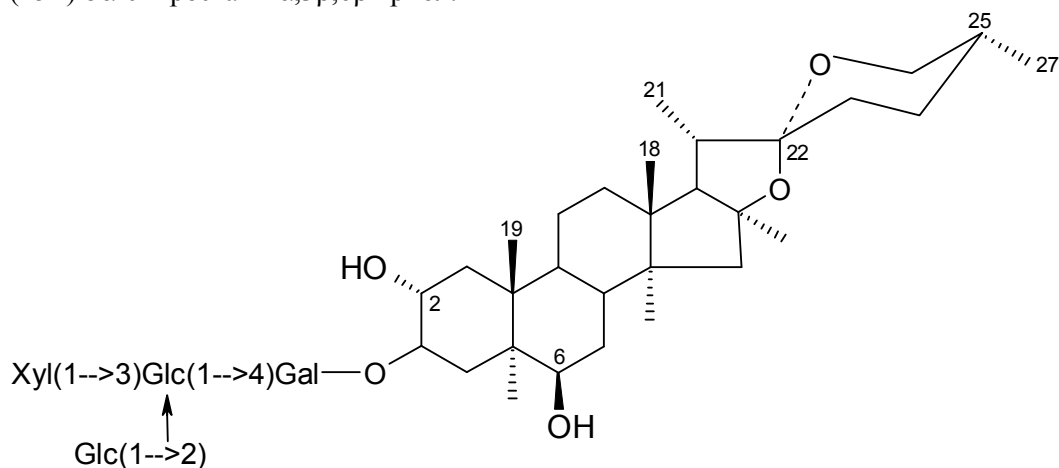
**Таблица 2**

**Наблюдаемые корреляции в спектрах HSQC и HMBC гликозида**

№ атома	$\delta_{\text{H}}$ HSQC	HMBC	№ п/п	$\delta_{\text{H}}$ HSQC	HMBC
1a	2,21 dd	C-2, 3, 5, 10, 19	25	1,59 m	C-24
1b	1,25 m	C-2, 9, 10, 19	26a	3,58 dd	C-22, 24, 25
2	4,09 m	C-3	26b	3,49 t	C-22, 24, 25, 27
3	4,01 m	C-2, 1'	27	0,69 d	C-24, 25, 26
4a	2,38 q	C-2, 5, 10			
4b	2,12 m	C-5, 10	1'-Gal	4,96 d	C-3, 3'
5	1,18 m	C-4, 10, 19	2'	4,54 m	C-3'
6	3,96 m	C-8, 10	3'	4,12 m	C-5'
7a	2,00 m	C-5, 6, 9	4'	4,59 m	C-2', 3', 5', 1''
7b	1,17m	C-8	5'	4,02 m	C-6'
8	2,15 m	C-6, 9, 13, 14	6'a	4,59 m	C-5'
9	0,75 td	C-8, 10, 19	6'e	4,19 m	C-4', 5'
10			1"Glc	5,20 d	C-4'
11a	1,54 m	C-8	2''	4,34 t	C-3'', 1'''
11b	1,42 m	C-8	3''	4,14 t	C-1''', 1'', 2'', 4''
12a	1,70 m	C-9, 13, 14	4''	3,79 t	C-3'', 5'', 6''
12b	1,09 m	C-9, 11, 13	5''	3,85 m	C-4'', 6''
13			6'a	4,48 m	
14	1,14 m	C-8, 12, 13, 15, 17, 18	6'e	4,05 m	C-4'', 5''
15a	2,08 m	C-8, 13, 14, 16, 17	1"Glc	5,56 d	C-2'', 3'''
15b	1,43 m	C-8, 14, 16	2'''	4,03 m	C-3'''
16	4,57 m	C-13	3'''	4,12 m	C-1''', 2''', 4''', 5'''
17	1,83 t	C-12, 13, 15, 16, 18, 20, 21	4'''	4,03 m	C-6'''
18	0,85 s	C-12, 13, 14, 17	5'''	3,89 m	C-6'''
19	1,28 s	C-1, 5, 10	6'''a	4,53 m	C-4'''
20	1,94 m	C-13, 17, 21, 22, 23	6'''e	4,40 dd	C-4''', 5'''
21	1,14 d	C-17, 20, 22	1'''Xyl	5,24 d	C-3''', 3''''
22			2''''	3,94 t	C-3''', 4''''
23a	1,67 m	C-20, 22, 24	3''''	4,07 m	C-5''''
23b	1,62 m	C-22, 24, 25	4''''	4,11 m	C-3''', 5''''
24a	1,57 m	C-22, 23	5''''a	3,66 t	C-1''', 3''', 4''''
24b	1,53 m	C-22, 23, 25	5''''e	421 m	C-1''', 3''', 4''''

Корреляция между C-3 (84,4) агликона и H-1 Gal (4,96) показывает место присоединения углеводных остатков к агликону. Для C-4 Gal (79,1) наблюдается химический сдвиг, характеризующий место присоединения остатка глюкопиранозы. НМВС спектр показал структурно информативные кросс-пики корреляций между сигналом протона с  $\delta$  4,96 м.д. (H-1 Gal') и сигналом атома углерода с  $\delta$  81,0 м.д. (C-2 Glc"), а также сигналами H-1 Xyl (5,24) и C-3 Glc" (86,8); H-1 Glc''' (5,56) и C-2 Glc" (81,0); H-1 Glc" (5,20) и C-4 Gal (79,1).

Таким образом, основной стероидный гликозид соцветий лука Кирилла *Allium cyrillii* Ten. представляет собой 3-O- $\beta$ -D-ксилопиранозил-(1 $\rightarrow$ 3)-[O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)]-O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-галактопиранозид-(25R)-5 $\alpha$ -спиростан-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ -триол.



## ВЫВОДЫ

1. Из соцветий лука Кирилла *Allium cyrillii* Ten. была получена сумма стероидных гликозидов и выделен основной сапонин.
2. На основании химических и спектральных методов было установлено, что он представляет собой 3-O- $\beta$ -D-ксилопиранозил-(1 $\rightarrow$ 3)-[O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)]-O- $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-галактопиранозид-(25R)-5 $\alpha$ -спиростан-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ -триол.

## Список литературы

1. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана / [П.К. Кинтя, Г.В. Лазурьевский, Н.Н. Балашова и др.]. – Кишинев: Штиинца, 1987. – 142 с.
2. Васильева И.С. Состав и биологическая активность стероидных гликозидов из суспензионной культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall. / И.С. Васильева, В.А. Пасешниченко // Прикл. биохим. и микробиол. – 1995. – Т. 31. – С. 238–242.
3. Multiple functions of sterols in yeast endocytosis / A. Heese-Peck, H. Pichler, B. Zanolari [et al.] // Mol. Biol. Cell. – 2002. – Vol. 13. – P. 2664–2680.
4. Oleszek W. Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants / W. Oleszek, A. Marston // Phytochemical Society of Europe. – 2000. – Vol. 45. – P. 241–254.
5. Steroid saponins from fenugreek and some of their biological properties / Y. Sauvare, Y. Baissac, O.

- Leconte [et al.] // Adv. in Exp. Med. and Biol. N.Y. – London: Plenum Press. – 1996. – Vol. 405. – P. 37–46.
6. Кинтя П.К., Ковальчук Л.П., Бурцева С.А. Поиск антиоксидантов в ряду стероидных гликозидов // Хим. фарм. журнал. – 1982. – № 1. – С. 95–97.
  7. Стероидные фураностаноловые гликозиды – новый класс природных адаптогенов / Васильева И.С., Удалова Ж.В., Зиновьева С.В., Пасешниченко В.А. // Прикладная биохимия и микробиология – 2009. – Т. 45, № 5. – С. 517–526.
  8. Kiyosawa S. Detection of Prototype Compounds of Diosgenin and Other Spirostanol-Glycosides / S. Kiyosawa, M. Huton // Chem. Pharm. Bull. – 1968. – Vol. 16. – P. 1162–1164.
  9. Sannie M. Steroid Sapogenins 7. Neoruscogenin 3-β-Dihydroxy-22β-25L-S-Spirostene, a new Sapogenin from *Ruscus aculeatus* / M. Sannie, H. Lapin // Bull. Soc. Chem. France. – 1957. – Vol. 10. – P. 1237–1241.
  10. Ikeda T. Pregnane- and furostane-type oligoglycosides from the seeds of *Allium tuberosum* / T. Ikeda, H. Tsumagari, M. Okawa [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2004. – Vol. 52. – № 1. – P. 142–145.
  11. Su L. Steroidal saponins from *Tribulus terrestris* / L. Su, G. Chen, S.-G. Feng [et al.] // Steroids. – 2009. Vol. 74. – P. 399–403.
  12. Agrawal P.K. Carbon-13 NMR спектроскопия of steroidal saponins and steroidal saponins / P.K. Agrawal, D.C. Jain, R.K. Gupta [et al.] // Phytochemistry. – 1985. – Vol. 24. – № 11. – P. 2479–2496.
  13. Agrawal P.K. Assigning stereodiversity of the 27-Me group of furostane-type steroidal saponins via NMR chemical shifts / P.K. Agrawal // Steroids. – 2005. – Vol. 70. – P. 715–724.
  14. Peng J. 19 New steroidal saponins from *Allium* plants: isolation, structural elucidation and effect on blood coagulability / J. Peng, X. Yao // Saponins used in traditional and modern medicine. Plenum press.: New York, 1996. Vol. 404. – P. 511–526.
  15. Hayes P.Y. Steroidal saponins from the roots of *Trillium erectum* (Beth root) / P.Y. Hayes, R. Lehmann, K. Penman [et al.] // Phytochemistry. – 2009. – Vol. 70. – P. 105–113.

**Толкачова Н.В.** Будова основного стероїдного глікозиду суцвіть *Allium cyrililii* (*Alliaceae*) / **Н.В. Толкачова, Г.П. Зайцев, В.В. Качала, В.І. Гришковець, В.Я. Чирва** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 390–395.

В результаті дослідження стероїдних глікозидів суцвіть цибулі Кірілла (збільшеного) *Allium cyrililii* Ten. виділений основний спіростаноловий глікозид. За допомогою хімічних і спектральних методів аналізу було встановлено структуру даної сполуки, яка є 3-*O*-β-*D*-ксилопіранозил-(1→3)-[*O*-β-*D*-глюкопіранозил-(1→2)]-*O*-β-*D*-глюкопіранозил-(1→4)-*O*-β-*D*-галактопіранозид-(25R)-5α-спіростан-2α,3β,6β-тріол.

**Ключові слова:** *Allium cyrililii* Ten., стероїдні глікозиди.

**Tolkachova N.V.** Structure of basic steroidal glycoside of raseme of *Allium cyrililii* (*Alliaceae*) / **N.V. Tolkachova, G.P. Zaytsev, V.V. Kachala, V.I. Grishkovets, V.Ya. Chirva** // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 390–395.

As the result of the research of steroidal glycosides of raseme of *Allium cyrililii* Ten. The main spirostanol saponin has been obtained. With the help chemical and spectral methods the structure of the given compound has been determined. It is 3-*O*-β-*D*-xylopyranosyl-(1→3)-[*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→2)]-*O*-β-*D*-glucopyranosyl-(1→4)-*O*-β-*D*-galactopyranoside-(25R)-5α-spirostan-2α,3β,6β-triol.

**Keywords:** *Allium cyrililii* Ten., steroidal glycosides.

Поступила в редакцію 18.05.2011 г.

**УДК 547.455.623'2:612.014.46**

## **ОСОБЕННОСТИ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИТИЧЕСКОГО ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**

*Чупахина Т.А., Гончаренко Ю.Н., Курьянов В.О., Астраханцева А.А.*

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

В условиях межфазного катализа в системе «твердый карбонат калия–ацетонитрил» с использованием катализатора 15-краун-5 изучена реакция 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- $\alpha$ -D-глюкозаминилхлорида с салициловой кислотой. Приведены условия получения моно- и бис-углеводных производных салициловой кислоты, строение которых доказано с помощью  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопии.

**Ключевые слова:** межфазный катализ, краун-эфир, гликозилирование, гликозильный эфир.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что в живых системах углеводы являются субстратами специфических рецепторов в широком круге биологических процессов. Межклеточные взаимодействия, иммунный ответ, патогенез бактериальных и вирусных инфекций, рост и метастазирование опухолевых клеток реализуются вследствие связывания углеводных остатков с клеточной поверхностью посредством соответствующих рецепторов. Поскольку аффинитет единичного углеводного остатка к его рецептору обычно достаточно слаб, прочное связывание, наблюдающееся при этом распознавании, обусловлено одновременной координацией рецепторами, несущими ряд эквивалентных сайтов связывания – нескольких идентичных гликозидных остатков, находящихся на поверхности субстрата. Этот феномен назван мультивалентностью, или гликозидным кластерным эффектом и явился толчком к синтезу широкого круга полигликозилированных соединений – миметиков биологических лигандов и их функций. Избирательная модификация полифункциональных соединений создаёт предпосылки для молекулярного дизайна биологически активных веществ, несущих различное число углеводных остатков.

Важной разновидностью 1-*O*-производных сахаров являются гликозильные эфиры карбоновых кислот, представляющие определенный фармакологический интерес. Салициловая кислота, обладающая хорошо известным спектром биологической активности, выбрана нами как пример бифункционального соединения с целью получения веществ, содержащих различное количество остатков 2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкозы, связанных с кором неуглеводной природы *O*-гликозидной и сложноэфирной связями.

В настоящем сообщении обсуждаются особенности синтеза моно- и бис-углеводных производных салициловой кислоты.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

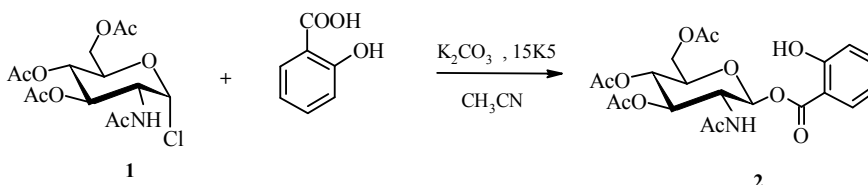
Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение – при 20–25 °С на поляриметре Polamat-A ( $\lambda = 546$  нм).

ТСХ проводили на пластинках Sorbfil-АФВ-УФ («Сорбполимер», Россия). Зоны веществ обнаруживали в УФ (254 нм), а также 5% раствором серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием до 200–300 °С. Использовали хроматографическую систему растворителей: бензол–ацетон, 5:1 (А), бензол–изопропиловый спирт, 10:1 (Б), хлороформ–изопропиловый спирт, 15:1 (В). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Merck 230–400 меш.

<sup>1</sup>Н ЯМР спектры получены на спектрометрах Varian Mercury-400 (400 МГц), Varian Mercury-300 (300 МГц), внутренний стандарт – Me<sub>4</sub>Si. Приведены химические сдвиги (ХС) (м.д.,  $\delta$ -шкала) и константы спин-спинового взаимодействия (КССВ,  $J$ , Гц).

### схема 1

#### Синтез 2-ацетамидо-3,4,6-три-*o*-ацетил-1-*o*-(2-гидроксибензоил)-2-дезоксиглюкопиранозы (2)



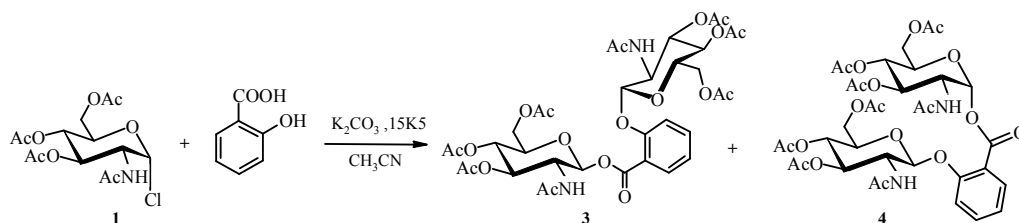
**Способ 1.** Смесь 400 мг (1,10 моль)  $\alpha$ -хлорида **1**, 151 мг (1,10 моль) салициловой кислоты, 151 мг (1,1 моль) безводного карбоната калия и 48 мг (0,22 ммоль) 15K5 в 12 мл безводного ацетонитрила перемешивали при температуре 20–22 °С до полной конверсии гликозил-донора (ТСХ, система А). Твердую фазу отделяли фильтрованием, осадок промывали на фильтре ацетонитрилом (2×5 мл), растворитель удаляли досуха при пониженном давлении. Продукт реакции **2** выделяли с помощью колоночной хроматографии, элюируя системой бензол–изопропиловый спирт (100:1) → бензол–изопропиловый спирт (30:1). Выход 2-ацетамидо-3,4,6-три-*o*-ацетил-1-*o*-(2-гидроксибензоил)-2-дезоксиглюкопиранозы составил 355 мг (69%); т.пл. 142 °С,  $[\alpha]_{546} -50^\circ$  (с 1,0; хлороформ).

<sup>1</sup>Н ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 300 МГц): 1,75с (3H, NAc), 1,96с (3H, OAc), 2,00с (6H, 2OAc), 4,12м (4H, H-2, H-5, H-6a, H-6b), 4,97дд (1H, H-4,  $J_{4,5}$  10,2 Гц), 5,27дд (1H, H-3,  $J_{3,4}$  10,8 Гц), 5,92д (1H, H-1,  $J_{1,2}$  8,4 Гц), 6,96дд, 7,01д, 7,55дд, 7,68д, (4H, CH<sub>аром.</sub>), 8,09д (1H, NH,  $J_{2,NH}$  9,3 Гц), 10,19с (1H, OH).

**Способ 2.** По способу 1 из 400 мг (1,1 моль)  $\alpha$ -хлорида **1** в отсутствие межфазного катализатора получили целевой продукт реакции **2** с выходом 205 мг (40%) после очистки колоночной хроматографией.

Схема 2

Синтез (2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиданозидил)-2-(2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиданозидилокси)бензоата (3) и (2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-α-*D*-глюкопиданозидил)-2-(2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиданозидилокси)бензоата (4)



Смесь 500 мг (1,37 ммоль) α-хлорида **1**, 94,4 мг (0,68 ммоль) салициловой кислоты, 517 мг (3,75 ммоль) безводного карбоната калия, 11 мг (0,05 ммоль) 15K5 в 15 мл безводного ацетонитрила перемешивали при температуре 20–22 °С до полной конверсии гликозил-донора (ТСХ, система Б). Выделение продуктов реакции **3** и **4** проводили по способу 1. Выход целевого продукт **3** после колоночной хроматографии (элюент: хлороформ–изопропиловый спирт 100:1 → хлороформ – изопропиловый спирт, 15:1) составил 45 мг (8%); т.пл. 134 °С,  $[\alpha]_{546} -37,5^\circ$  (с 0,9; хлороформ).

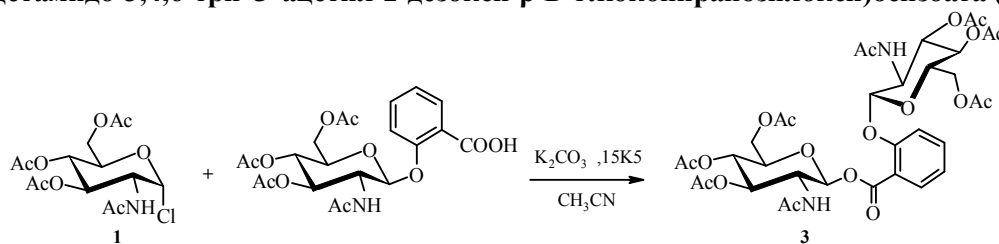
<sup>1</sup>Н ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 МГц) соединения **3**: 1,76с, 1,78с (6Н, NAc), 1,97с, 1,98с, 2,01с, 2,02с (12Н, 4OAc), 2,00с (6Н, 3OAc), 4,11м (8Н, 2 Н-2, 2 Н-5, 2 Н-6а, 2 Н-6б), 4,93дд, 4,96дд (2Н, 2 Н-4, *J*<sub>4,5</sub> 9,6 Гц, *J*<sub>4,5</sub> 10,0 Гц), 5,28 дд, 5,25дд (2Н, 2 Н-3 *J*<sub>3,4</sub> 9,6 Гц), 5,54д, 5,92д (2Н, 2 Н-1, *J*<sub>1,2</sub> 8,8 Гц), 7,13т, 7,28д, 7,59дд, 7,74д (4Н, СН<sub>аром.</sub>), 7,95д, 8,06д (2Н, 2 NH, *J*<sub>2,NH</sub> 8,0 Гц, *J*<sub>2,NH</sub> 9,6 Гц).

Выход целевого продукт **4** после колоночной хроматографии при градиентном элюировании системой хлороформ–изопропиловый спирт (100:1) → хлороформ–изопропиловый спирт (30:1) составил 38 мг (7%); т.пл. 211 °С,  $[\alpha]_{546} -34^\circ$  (с 1,0; хлороформ).

<sup>1</sup>Н ЯМР (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 МГц) соединения **4**: 1,72с, 1,81с (6Н, 2NAc), 1,96с (9Н, 3OAc), 1,99с, 2,01с, 2,02с (9Н, 3OAc), 4,18м (8Н, 2Н-2, 2Н-5, 2Н-6а, 2Н-6б), 4,97дд, 5,04дд (2Н, 2Н-4, *J*<sub>4,5</sub> 9,6 Гц), 5,28дд (2Н, 2Н-3, *J*<sub>3,4</sub> 9,6 Гц), 5,59д, 6,17д (2Н, 2Н-1, *J*<sub>1,2</sub> 3,2 Гц, *J*<sub>1,2</sub> 8,4 Гц), 7,22т, 7,39д, 7,64т, 7,89д (4Н, СН<sub>аром.</sub>), 8,00д, 8,02д (2Н, 2NH, *J*<sub>2,NH</sub> 8,0 Гц, *J*<sub>2,NH</sub> 8,4 Гц).

Схема 3

Синтез (2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиданозидил)-2-(2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопиданозидилокси)бензоата (3)

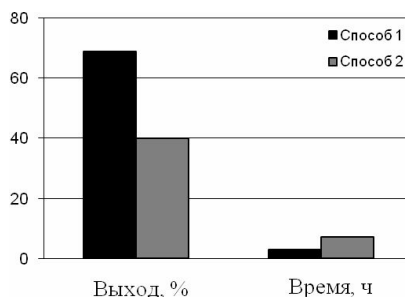


Смесь 200 мг (0,55 ммоль)  $\alpha$ -хлорида **1**, 256 мг (0,55 ммоль) *o*-карбоксифенил-2-ацетиамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозид, 76 мг (0,55 ммоль) безводного карбоната калия, 24 мг (0,11 ммоль) 15K5 в 6 мл безводного ацетонитрила перемешивали при температуре 20–22 °С до полной конверсии гликозил-донора (ТСХ, система Б). Продукт реакции **3** выделяли по способу 1, используя для колоночной хроматографии элюент хлороформ–изопропиловый спирт (100:1) → хлороформ–изопропиловый спирт (25:1). Выход производного **3** составил 255 мг (58%); т.пл. 133 °С,  $[\alpha]_{546} -53^\circ$  (с 1,0; хлороформ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью расширения круга объектов межфазного каталитического гликозилирования [1–5], нами изучено взаимодействие 2-ацетиамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- $\alpha$ -D-глюкозаминилхлорида с бифункциональным *O*-нуклеофилом – салициловой кислотой. Гликозильный эфир **2** получили межфазной реакцией стехиометрических количеств  $\alpha$ -хлорида **1**, салициловой кислоты, безводного карбоната калия и 20% (мольн.) 15K5 при комнатной температуре, в среде сухого ацетонитрила. Реакция заканчивалась в течение 3 ч (ТСХ). Выход производного **2**, выделенного колоночной хроматографией, составил 69%.

В отсутствие межфазного катализатора процесс шел медленнее, и полная конверсия глюкозаминилхлорида **1** в продукт реакции **2** завершалась за 6 ч с выходом 40%. Таким образом, использование 15K5 сокращало время реакции глюкозаминилирования и повышало выход целевого продукта, сравнительно с процессом, протекающим в отсутствие МФ-катализатора (рис. 1).



#### Способ 1:

Хлорид **1**: **2** :  $K_2CO_3$  : 15K5 = 1:1:1:0,2

#### Способ 2:

Хлорид **1**: **2** :  $K_2CO_3$  = 1:1:0,2

Рис. 1. Зависимость времени реакции и выхода продукта **2** от условий реакции.

Строение целевого продукта **2** доказано ПМР-спектроскопией. Об образовании гликозильного эфира свидетельствует наличие в  $^1H$  ЯМР спектре дублета аномерного протона с ХС 5,9 м.д. и синглета хелатированной фенольной гидроксильной группы с ХС 10,2 м.д. 1,2-*транс*-Диаксиальное расположение протонов в остатке *N*-ацетилглюкозамина подтверждается величиной КССВ 8,4 Гц. В спектре также идентифицированы сигналы скелетных протонов, протонов *O*- и *N*-

ацетильных защитных групп углеводного остатка, а также сигналов ароматических протонов агликона с ХС 6,95, 6,99, 7,55 и 7,69 м.д.

Для введения второго остатка *N*-ацетилглюкозамина по фенольной гидроксильной группе салициловой кислоты межфазную реакцию проводили по способу 1 с использованием избытка основания. Гликозилгалогенид **1** конвертировался с образованием *бис*-производных **3** и **4** за 3–4 ч. Невысокие выходы соединений **3** и **4** – 8% и 7%, соответственно, связаны с протеканием побочных реакций образования ацетатов **5** и **6** (рис. 2). Образование продукта реакции **4** с  $\alpha$ -конфигурацией сложноэфирной связи, скорее всего, связано с аномеризацией.

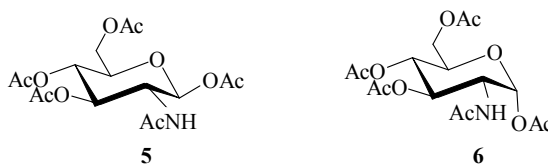


Рис. 2. Структуры 1-*O*-ацетилглюкопираноз **5** и **6**.

Строение *бис*-глюкозаминидов **3** и **4** доказано  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопией. Характерной особенностью ПМР-спектров является отсутствие сигналов протона фенольной гидроксильной группы и удвоение сигналов скелетных протонов углеводного остатка относительно сигналов протонов агликона. Образование димеров с различной конфигурацией гликозильной связи подтверждается дублетом аномерного протона с ХС 6,2 м.д. и КССВ 3,2 Гц, свидетельствующей об  $\alpha$ -конфигурации ацилгликозидной связи *бис*-производного **4**. 1,2-*транс*-Диаксиальное расположение протонов в остатке *N*-ацетилглюкозамина *бис*-производного **3** подтверждается присутствием в его ПМР-спектре дублета аномерного протона с ХС 5,9 м.д. и КССВ 8,8 Гц. Химические сдвиги ароматических протонов в остатке салициловой кислоты продуктов реакции **3** и **4** соответствуют химическим сдвигам ароматических протонов гликозильного эфира **2**.

Применение альтернативного подхода – синтез соединения **3** исходя из *o*-карбокисфенил-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- $\beta$ -D-глюкопиранозиды завершалось образованием единственного продукта **3** с  $\beta$ -конфигурацией аномерного центра в обоих углеводных остатках (сравнение с заведомыми образцами) с выходом 58%.

## ВЫВОДЫ

1. Показана возможность применения межфазной системы «твердый  $\text{K}_2\text{CO}_3$ – безводный  $\text{CH}_3\text{CN}$ » с использованием катализатора 15K5 для реакции глюкозаминирования бифункционального соединения – салициловой кислоты.
2. В обсуждаемом межфазном процессе 15K5, являющийся катализатором межфазного переноса, в сравнении с процессом без катализатора обеспечивает



сокращение времени реакции и повышение выхода 1-*O*-ацильного производного салициловой кислоты.

3. Подобраны условия получения моно- и *бис*-производных салициловой кислоты.

#### Список литературы

1. Glycosylation of mycotoxins / S. Grabley., M. Garies, W. Böckers, J. Thiem // *Synthesis*. – 1992. – Vol. 27, № 11. – P. 1078–1080.
2. Bliard C. Glycosylation of acids under phase transfer conditions. Partial synthesis of saponins / C. Bliard, G. Massiot, S. Nazabadioko // *Tetrahedron Lett.* – 1994. – Vol. 35, № 33. – P. 6107–6108.
3. Loganathan D. Phase-transfer catalysed glycosylation. Synthesis of 1-*O*-(*p*-methoxycinnamoyl)-2,3,4,6-*tera-O*-acetyl- $\beta$ -D-glycopyranose / D. Loganathan, A. Amonkar, G. Trivedi // *Indian J. Chem.* – 1983. – Vol. 22, № 4. – P. 400–401.
4. Катализируемый краун-соединениями синтез  $\beta$ -арилгликозидов N-ацетилглюкозамина / В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, А.Е. Земляков, С.А. Котляр [и др.] // *Биоорг. химия* – 2001. – Т. 27, № 6. – С. 434–438.
5. Курьянов В.О. Межфазный катализ: синтез гликозильных эфиров N-ацетилглюкозамина / В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, В.Я. Чирва // *Журн. орг. та фарм. хімії* – 2009. – Т. 7, № 3. – С. 57–63.

**Чупахіна Т.О. Особливості міжфазної каталітичних глікозилювання салицилової кислоти / Т.О. Чупахіна, Ю.М. Гончаренко, В.О. Кур'янов, Г.О. Астраханцева // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 396–401.**

В умовах міжфазного каталізу у системі «твердий карбонат калію–ацетонітрил» з використанням катализатора 15-краун-5 досліджена реакція 2-ацетамідо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- $\alpha$ -D-глюкозамінілхлориду з салицилової кислотою. Приведені умови отримання моно- і *бис*-вуглеводних похідних салицилової кислоти, будову яких доведено за допомогою  $^1\text{H}$  ЯМР спектроскопії.

**Ключові слова:** міжфазний катализ, краун-етер, глікозилювання, глікозильний естер.

**Chupakhina T.A. Features of the phase transfer glycosilation of salicylic acid / T.A. Chupakhina, U.N. Goncharenko, V.O. Kuryanov, A.A. Astrakhantseva // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 396–401.**

In the phase transfer system "solid potassium carbonate–acetonitrile" in presence of catalytic amounts of 15-crown-5 reaction of peracetate  $\alpha$ -D-glucosaminilchloride with salicylic acid was studied. Conditions for obtaining mono- and *bis*-carbohydrate derivatives of salicylic acid whose structure was proved by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy were proved.

**Keywords:** phase transfer catalysis, crown-ether, glycosilation, glycosyl ether.

*Поступила в редакцію 15.05.2011 г.*

УДК 544.175 + 546.66

## КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АНИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ ЕВРОПИЯ С 3-МЕТИЛ-1-ФЕНИЛ-4-ФОРМИЛПИРАЗОЛОНОМ-5

Шульгин В.Ф.<sup>1</sup>, Абхаирова С.В.<sup>2</sup>, Конник О.В.<sup>3</sup>, Русанов Э.Б.<sup>4</sup>, Александров Г.Г.<sup>5</sup>,  
Еременко И.Л.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

<sup>2</sup>РВУЗ Крымский инженерно-педагогический университет, Симферополь, Украина

<sup>3</sup>Севастопольский научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации, Севастополь, Украина

<sup>4</sup>Институт органической химии НАН Украины, Киев, Украина

<sup>5</sup>Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, Москва, Россия

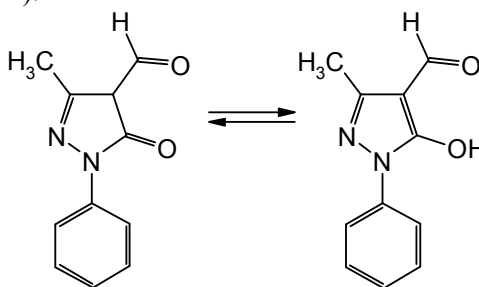
E-mail: vshul@crimea.edu

Синтезированы и исследованы методами рентгеноструктурного анализа координационные соединения состава  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  и  $[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4]$  (HL = 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолон-5). Установлено, что комплексные анионы имеют геометрию квадратной антипризмы и содержат четыре депротонированных остатка енольной формы пиразолона.

**Ключевые слова:** европий, 4-ацилпиразолон-5, рентгеноструктурный анализ.

### ВВЕДЕНИЕ

Интерес к координационным соединениям лантанидов с органическими лигандами вызван в значительной мере поиском новых высокоэффективных люминофоров [1, 2]. Особое внимание привлекают комплексы на основе 4-ацилпиразолов-5, проявляющие высокую фото- и электролюминесцентную активность [3]. Координационные соединения 4-ацилпиразолов представляют собой хорошо изученный класс веществ [4], однако некоторые лиганды данного класса остаются малоисследованными. К их числу относится 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолон-5 (HL).



Недавно нами был описан синтез и результаты исследования особенностей молекулярного строения координационных соединений лантанидов с 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолоном-5. Было установлено, что соединение лантана имеет биядерную структуру и содержит наряду с хелатирующими терминальными лигандами три мостиковых аниона 4-ацилпиразолона-5 [5]. По данным рентгенофазового анализа комплексы самария, неодима и празеодима изоструктурны координационному соединению лантана. Комплексы остальных лантанидов, по-видимому, имеют типичную для 4-ацилпиразолов мономерную структуру с тремя лигандами, хелатирующими центральный атом атомами кислорода депротонированной  $\beta$ -дикетонной группировки.

В настоящей работе описаны синтез и строение анионных комплексов катионов европия(III) с 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолоном-5.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

3-Метил-1-фенил-4-формилпиразолон-5 получали по литературным методикам [6]. Исследуемые координационные соединения синтезировали следующим образом. К суспензии 0,16 г (4 ммоль) мелкоизмельченного гидроксида натрия в 25 мл 96 %-ного этанола добавляли 0,808 г (4 ммоль) 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолона-5. Полученную смесь перемешивали на магнитной мешалке до полного растворения осадка (20-30 минут). Затем добавляли раствор 1 ммоль хлорида европия в 10 мл этанола, перемешивали еще полчаса, фильтровали и оставляли для кристаллизации. Выделившееся через сутки мелкокристаллическое вещество отделяли фильтрованием, промывали на фильтре небольшим количеством этанола и сушили на воздухе. Выход продукта составлял 55 - 60 % от теоретически возможного. По данным элементного и термогравиметрического анализа состав комплекса отвечает формуле  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (HL = 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолон-5). Добавление в реакционную смесь иодида тетрабутиламмония позволяет выделить комплекс состава  $[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  с выходом 40-60 %.

**$[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (I).** Найдено, %: С 51,94; Н 4,36.

Для  $\text{C}_{44}\text{H}_{42}\text{EuN}_8\text{O}_{10}$  вычислено, %: С 51,12; Н 4,09.

**$[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (II).** Найдено, %: С 57,33; Н 5,78.

Для  $\text{C}_{60}\text{H}_{76}\text{N}_9\text{O}_8\text{Eu}$  вычислено, %: С 58,37; Н 6,20.

При перекристаллизации из метанола комплекс I сохраняет сольватный состав, комплекс II теряет две молекулы воды, образуя комплекс  $[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4]$  (IIa).

Рентгеноструктурный анализ монокристаллов, выращенных кристаллизацией из метанола, выполнен на дифрактометре Bruker Smart APEX II, оборудованном CCD-детектором и источником монохроматического излучения ( $\text{MoK}_\alpha$ ,  $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ , графитовый монохроматор) с использованием стандартной процедуры [7]. Структуры расшифрованы прямым методом и уточнены в полноматричном анизотропном приближении для всех неводородных атомов. Атомы водорода генерированы геометрически и уточнены в модели "наездника". Расчеты проведены с использованием программ SHELXL97 [8]. Детали рентгенографического эксперимента представлены в табл. 1. Полный набор рентгеноструктурных данных будет депонирован в Кембриджский банк структурных данных.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным рентгеноструктурного анализа исследуемые координационные соединения имеют ионное строение. Катионы европия связаны с четырьмя депротонированными остатками 5-гидрокси-4-формилпиразола, хелатирующими центральный атом атомами кислорода карбонильной и депротонированной гидроксильной группы (рис. 1).

Таблица 1.

#### Кристаллографические данные и детали расшифровки структуры комплексов I и IIa

Параметр	I	IIa
Состав	[Na(H <sub>2</sub> O)][EuL <sub>4</sub> ]·H <sub>2</sub> O	[NBu <sub>4</sub> ][EuL <sub>4</sub> ]
Брутто-формула	C <sub>44</sub> H <sub>40</sub> EuN <sub>8</sub> NaO <sub>10</sub>	C <sub>60</sub> H <sub>72</sub> EuN <sub>9</sub> O <sub>8</sub>
Размеры кристалла, мм	0,45x0,24x0,14	0,18x0,06x0,04
M <sub>r</sub>	1015,79	1199,23
Сингония	тетрагональная	орторомбическая
Простр. группа	<i>I</i> $\bar{4}$ <i>c</i> 2	<i>Iba</i> 2
<i>a</i> (Å)	16,365(1)	16,428(2)
<i>b</i> (Å)	16,365(1)	16,749(2)
<i>c</i> (Å)	16,3654(10)	16,231(2)
<i>Z</i>	4	4
V(Å <sup>3</sup> )	4383,1(3)	4465,9(11)
Температура (К)	296(2)	296(2)
μ(мм <sup>-1</sup> )	1,508	1,48
d(выч.) (г/см <sup>3</sup> )	1,539	1,784
варьирование θ (град)	3,05 - 30,37	1,7 - 26,4
Диапазон изменения индексов	-22 < h < 18 -23 < k < 17 -23 < l < 17	-20 < h < 20 -20 < k < 20 -20 < l < 20
Измерено рефлексов	11387	19921
Число независимых отражений	3189	4580
R	0,0325	0,038
R <sub>w</sub>	0,0851	0,115
GOOF	0,991	1,000
Δρ, max., min. (e·Å <sup>-3</sup> )	0,080; -0,563	0,85; -0,89

Образующиеся хелатные циклы практически плоские, отклонения катиона европия от плоскости, образованной хелатофорной группой, не превышает 0,018 Å для соединения **I** и 0,020 Å для соединения **IIa**.

Хелатирующие лиганды структурно эквивалентны. Длины связей, образованных катионами европия с эндоциклическими и экзоциклическими атомами кислорода заметно отличаются (2,366 и 2,467 Å; 2,373 и 2,462 Å соответственно для соединений **I** и **IIa**), что свидетельствует об асимметричной координации лиганда. В то же время сопоставление длин связей углерод-кислород (1,257 и 1,241; 1,262 и 1,244 Å соответственно) свидетельствует о высокой степени делокализации, характерной для β-дикетонатов металлов. Длины связей и валентные углы в пределах остальной части органических лигандов близки к обычным величинам [9]. Геометрия координационного полиэдра катиона европия соответствует слегка искаженной квадратной антипризме.

Катионы натрия в комплексе  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  разупорядочены по двум позициям, и сближены с атомом кислорода разупорядоченной по двум позициям молекулы воды ( $\text{Na} \dots \text{O}$  2,817 Å), а также двумя атомами азота пиразольных гетероциклов ( $\text{Na} \dots \text{N}$  2,870 Å). Это приводит к объединению комплексных анионов с образованием двух взаимопроникающих полимерных каркасных структур (рис. 2).

Катион тетрабутиламмония в структуре комплекса **IIa** имеет локальную симметрию  $C_2$ . При этом бутильные радикалы сильно разупорядочены.

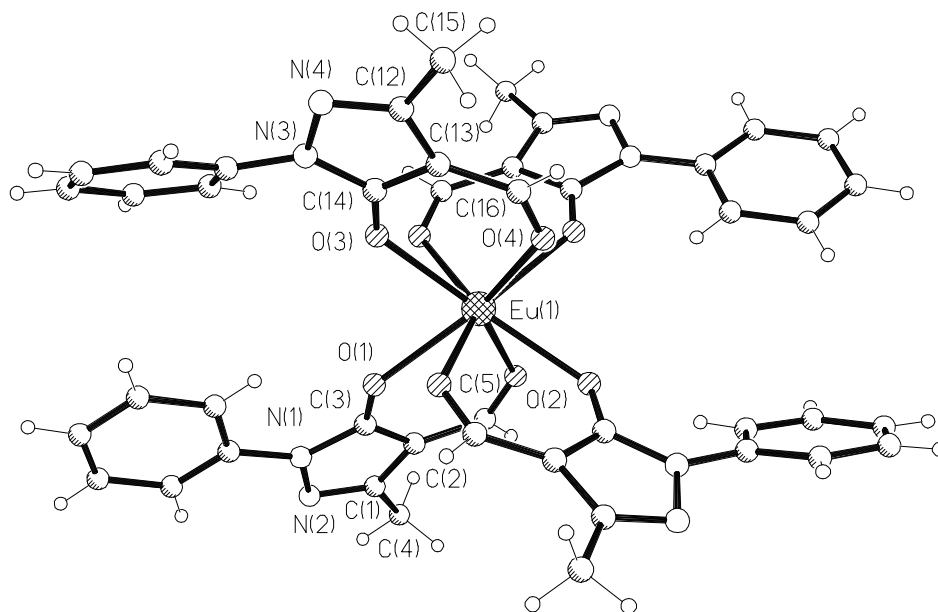


Рис. 1. Общий вид и нумерация атомов для аниона  $[\text{LnL}_4]$  в кристаллических структурах комплексов **I** и **IIa**.

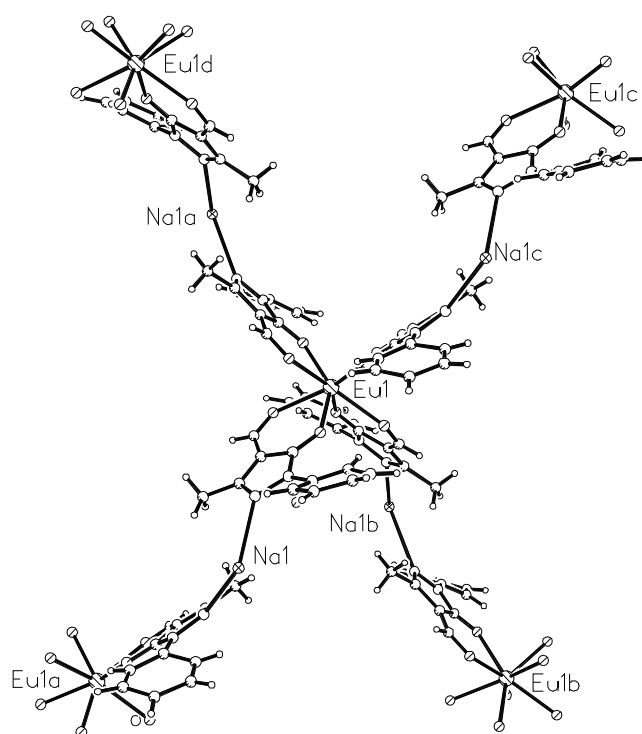


Рис. 2. Фрагмент кристаллической структуры координационного соединения  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (комплекс I).

Таблица 2.  
Основные длины связей при катионе европия и в хелатоформной группировке пиразольного лиганда

Связь	I	IIa
Eu—O1	2,366(3)	2,373(4)
Eu—O2	2,467(4)	2,462(5)
Eu—O3	2,366(3)	2,374(4)
Eu—O4	2,467(4)	2,444(5)
O1—C3	1,257(5)	1,262 (8)
O2—C5	1,241(5)	1,241 (8)
O3—C14	1,257(5)	1,267 (8)
O4—C16	1,241(5)	1,244 (8)

## ВЫВОД

В результате проведенного исследования объективно установлена кристаллическая структура анионных комплексов европия состава  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  и  $[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4]$  (HL = 3-метил-1-фенил-4-формилпиразолон-5).

## Список литературы

1. Каткова М.А. Координационные соединения редкоземельных металлов с органическими лигандами для электролюминесцентных диодов / М.А. Каткова, А.Г. Витухновский, М.Н. Бочкарев // Успехи химии. – 2005. – Т. 74. - № 12. – С. 1194-1214.
2. Кузьмина Н.П. Фото- и электролюминесценция координационных соединений РЗЭ(III) / Н.П. Кузьмина, С.В. Елисеєва // Журн. неорган. химии. – 2006 – Т. 51. - № 1. – С. 80-96.
3. Pettenari C. Synthesis, structure and luminescence properties of new rare earth metal complexes with 1-phenyl-3-methyl-4-acylpyrazol-5-ones / C. Pettenari, F. Marchetti, R. Pettenari [et al.] // J. Chem. Soc. Dalton Trans. - 2002. - № 7. - P. 1409-1415.
4. Marchetti F. Acylpyrazolone ligands: Synthesis, structures, metal coordination chemistry and applications // F. Marchetti, Pettinari C., Pettinari R. // Coord. Chem. Rev. - 2005. - Vol. 249. - P. 2909-2945.
5. Шульгин В.Ф. Молекулярное строение и кристаллическая структура биядерного комплекса лантана с 5-гидрокси-3-метил-1-фенил-4-формилпиразолом / В.Ф. Шульгин, С.В. Абхаирова, О.В. Конник [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология и химия». – 2009. - Т. 22 (61). - № 4. - С. 332-337.
6. Квитко И.Я. О строении продукта гидролиза 1-фенил-3-метил-4-диметиламинометил-5-пиразолон-5 / И.Я. Квитко, Б.А. Порай-Кошиц // ЖОХ. -1964. – Т.34, № 9. – С. 3005-3012.
7. SMART (Control) and SAINT (Integration) Software, Version 5.0, Bruker AXS Inc., Madison(WI), 1997.
8. Sheldrick G.M. SHELX97. Program for the Solution of Crystal Structures / G.M. Sheldrick. - Göttingen University, Göttingen (Germany), 1997.
9. Allen F.H. Tables of lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds / F.H. Allen, O. Kennard, D.G. Watson [et al] // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2 – 1987. – Pt. 2. - № 12. – S. 1-19.

**Шульгин В.Ф. Кристалічна структура аніонних комплексів европію з 3-метил-1-феніл-4-формилпіразолоном-5 / В.Ф. Шульгин, С.В. Абхаїрова, О.В. Конник, Е.Б. Русанов, Г.Г. Александров, І.Л. Єрьоменко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 402-407.**

Синтезовані і досліджені методами рентгеноструктурного аналізу координаційні сполуки складу  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})][\text{EuL}_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$  і  $[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4]$  (HL = 3-метил-1-феніл-4-формилпіразолон-5). Встановлено, що комплексні аніони мають геометрію квадратної антипризми й містять чотири депротоновані залишки енольної форми піразолону.

**Ключові слова:** европій, 4-ацилпіразолон-5, рентгеноструктурний аналіз.

**Shul'gin V.F. Crystal structure of the anionic complexes of europium with 3-methyl-1-phenyl-4-formylpirazolone-5 / V.F. Shul'gin, S.V. Abkhairova, O.V. Konnic, E.B. Rusanov, G.G. Alexandrov, I.L. Eremenko // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 402-407.**

The coordination compounds  $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_2][\text{EuL}_4]$  and  $[\text{NBu}_4][\text{EuL}_4]$  (HL = 3-methyl-1-phenyl-4-formylpirazolone-5) were synthesized and investigated by X-Ray analysis method. This is found that anionic complexes have a square antiprismatic geometry and contains four residues of pirazolone.

**Keywords:** europium, 4-acylpirazolone-5, X-Ray analysis.

*Поступила в редакцію 30.05.2011 г.*

УДК 547.918:547.859:543.42:581.142

## СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ С ЦИТРАТОМ СИЛДЕНАФИЛА: ОБРАЗОВАНИЕ В ВОДНО- СПИРТОВЫХ РАСТВОРАХ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Яковинин Л.А.<sup>1</sup>, Гришковец В.И.<sup>2</sup>, Белаш Д.Ю.<sup>1</sup>, Яровой И.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина

<sup>2</sup>Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина

E-mail: chemsevntu@rambler.ru

Впервые методом УФ-спектроскопии исследовано молекулярное комплексообразование цитрата силденафила с 3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабинопиранозидом хедерагенина ( $\alpha$ -хедерин) и его 28-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопиранозидовым эфиром (хедерасапонин С) в водно-спиртовых растворах. Установлено, что гликозиды образуют комплексы с цитратом силденафила состава 1:1. Проведено сравнительное изучение влияния гликозидов и их комплексов на всхожесть семян *Avena sativa* L.

**Ключевые слова.** тритерпеновые гликозиды,  $\alpha$ -хедерин, хедерасапонин С, цитрат силденафила, супрамолекулярный комплекс, УФ-спектроскопия, *Avena sativa* L., всхожесть семян.

### ВВЕДЕНИЕ

В последнее время значительно возрос интерес к получению молекулярных комплексов на основе растительных гликозидов, что объясняется возможностью создания на их основе новых низкодозных лекарственных препаратов. Молекулярное комплексообразование также используют для улучшения растворимости, повышения биодоступности и расширения спектра биологической активности различных веществ [1, 2].

В качестве перспективных комплексообразователей биологически активных молекул нами предложены тритерпеновые гликозиды плющей (рис. 1)  $\alpha$ -хедерин (3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабинопиранозид хедерагенина, гликозид **1**) и 3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабинопиранозил-28-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопиранозид хедерагенина (хедерасапонин С, гликозид **2**) [3]. Недавно мы сообщали об образовании супрамолекулярных структур гликозидов **1** и **2** с протеиногенными аминокислотами [4–7], некоторыми лекарственными веществами (парацетамолом [8], левомицетином [9], стрептоцидом [10], кофеином [11, 12]) и холестеринем [13].

Были получены комплексы гликозидов **1** и **2** с цитратом силденафила (SC, рис. 1) в водных растворах. Методом изоляционных серий установлено, что их состав равен 1:1 [14]. Исследовано влияние комплексов гликозидов с SC на электрическую активность нейронов моллюска *Helix albescens* [15]. Препараты на



основе SC широко используются для лечения эректильной дисфункции (виагра, дженагра, эректил, интагра IC и др.) и артериальной легочной гипертензии (revatio) [16, 17].

В настоящей работе рассмотрено комплексообразование гликозидов **1** и **2** с SC в водно-спиртовых растворах, а также влияние водных растворов комплексов на всхожесть семян овса посевного *Avena sativa* L.

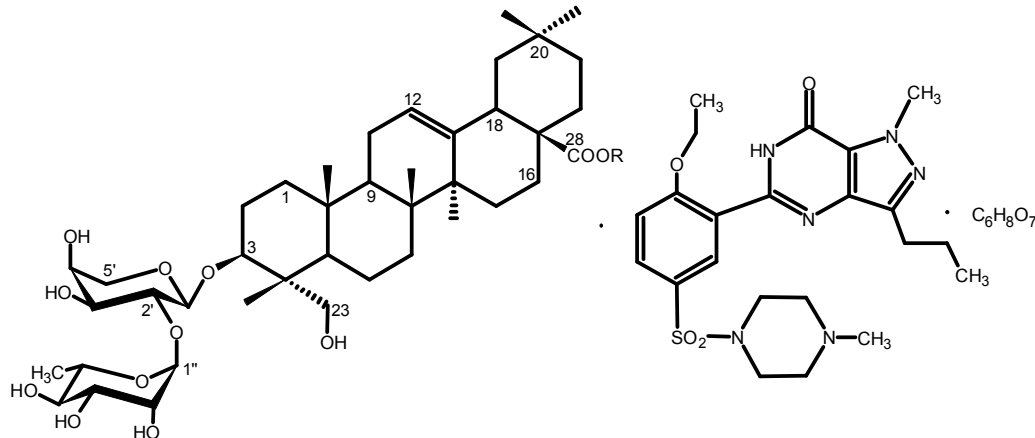


Рис. 1. Строение компонентов супрамолекулярных комплексов тритерпеновых гликозидов и цитрата силденафила (гликозид **1**: R=H; гликозид **2**: R=←βGlc<sub>p</sub>-(6←1)-βGlc<sub>p</sub>-(4←1)-αRha<sub>p</sub>).

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гликозиды **1** и **2** выделяли из листьев плющей *Hedera taurica* Carr. и *Hedera canariensis* Willd. (Araliaceae Juss.) и подтверждали их строение по методикам, приведенным в работах [18, 19]. Использовали образец цитрата силденафила фирмы Shilpa Medicare Limited (Индия) (партия NPV0080309).

УФ-спектры получены при комнатной температуре (20–22 °С) на спектрофотометре Unico UV-Vis 4802 (США) в кварцевых кюветах (*l*=1 см). Для составления изомолярной серии использовали 10<sup>-4</sup> М водно-спиртовые растворы гликозидов и SC. Растворитель – смесь фосфатного буфера (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>–NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; pH 7.0) с 96 % С<sub>2</sub>Н<sub>5</sub>ОН в соотношении 4:1. Полученные смеси выдерживали при комнатной температуре (20–22 °С) в течение 40 мин при постоянном перемешивании. Изомолярные кривые приведены на Рис. 2 и 3.

Влияние на всхожесть проверяли в лабораторных условиях на семенах *Avena sativa* L. (Poaceae) при температуре 27–28 °С. Для биоиспытаний смеси водных растворов SC и гликозидов **1** и **2** предварительно перемешивали 40–60 мин при такой же температуре. Концентрации индивидуальных гликозидов и SC, а также веществ в смесях, составляли по 0.5·10<sup>-4</sup> М. К семенам (по 25 штук) добавляли 5 мл исследуемого раствора и выдерживали их в нем на протяжении 24 ч. Растворы

сливали, семена промывали дистиллированной водой и помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой. Всхожесть семян определяли через 24, 48 и 72 ч (табл. 1). Доверительный интервал вычисляли со степенью надежности  $\alpha=0.95$ .

**Таблица 1**

**Прорастание семян *Avena sativa* в лабораторных условиях**  
(концентрации индивидуальных веществ и веществ в смесях по  $0.5 \cdot 10^{-4}$  М)

Параметр	Соединение					
	H <sub>2</sub> O (контроль)	1	2	SC	Комплекс 1-SC	Комплекс 2-SC
<b>Через 24 ч:</b>						
Всхожесть, %	52	8	24	56	64	80
Длина ростка, мм	0.5±0.2	0.1±0.1	0.4±0.3	0.6±0.2	0.9±0.4	1.4±0.7
Количество с корнем, %	80	56	64	72	80	88
Длина корня, мм	0.9±0.2	0.7±0.3	1.0±0.5	1.0±0.3	1.9±0.6	3.2±1.1
<b>Через 48 ч:</b>						
Всхожесть, %	76	52	64	84	76	80
Длина ростка, мм	3.9±1.4	0.5±0.2	1.6±0.8	2.2±0.9	3.1±1.2	4.4±1.8
Количество с корнем, %	88	80	76	92	84	88
Длина корня, мм	2.2±0.7	1.3±0.5	2.0±0.9	3.5±1.4	5.1±2.0	7.4±2.5
<b>Через 72 ч:</b>						
Всхожесть, %	92	68	86	88	76	92
Длина ростка, мм	7.9±1.8	1.6±0.8	3.8±1.7	5.9±2.1	9.7±3.4	10.7±3.6
Количество с корнем, %	92	80	84	92	84	92
Длина корня, мм	7.1±1.9	1.6±0.8	2.9±0.9	6.4±2.4	11.2±3.9	14.1±3.9

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Межмолекулярные взаимодействия исследованы методом УФ-спектроскопии. Состав комплексов определен методом изомольных серий [20]. На Рис. 2 показана изомольная кривая, полученная для смеси гликозида **1** и SC при использовании в качестве растворителя буферного раствора с добавкой этанола. При этом для компонентов получено молярное отношение  $\approx 1.0$ , что соответствует комплексу состава 1:1. С помощью изомольной кривой, составленной для смесей гликозида **2** и SC, также найдено молярное отношение  $\approx 1.0$  (рис. 3). Гликозид **2** и SC дают супрамолекулярный комплекс состава 1:1. Комплексы аналогичного состава были ранее получены для гликозидов **1** и **2** с SC в водных растворах [14]. Таким образом, состав комплексов, образующихся в водных и водно-спиртовых растворах оказался одинаковым. Изменение растворителя не повлияло на соотношение компонентов в комплексах.

Тритерпеновые гликозиды являются факторами аллелопатического взаимодействия в фитоценозах, т.к. благодаря их токсичности подавляется рост и

развитие растений [21]. В отличие от бисдесмозидных, монодесмозидные гликозиды обычно проявляют высокую токсичность [21, 22]. Имеются сведения о влиянии SC на развитие растений [23, 24]. Поэтому определенный интерес представляет исследование активности комплексов гликозидов и SC. Для оценки биологической активности комплексов **1** и **2** с SC нами рассмотрено их действие на всхожесть семян *Avena sativa* (табл. 1).

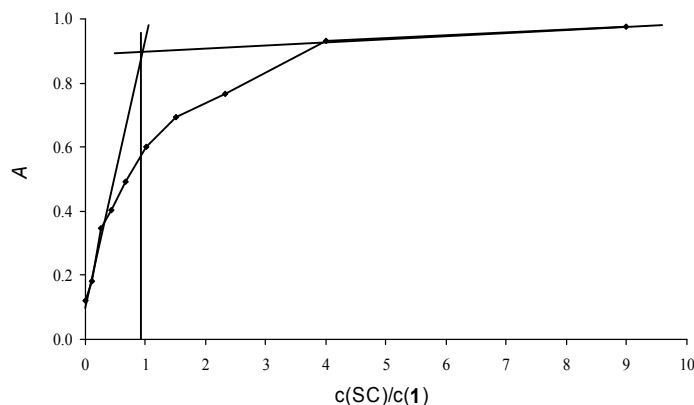


Рис. 2. Зависимость оптической плотности A от соотношения компонентов изомолярной серии при  $\lambda = 291$  нм:  $c(\text{SC}) = 10^{-4}$  М,  $c(1) = 10^{-4}$  М (растворитель – смесь фосфатного буфера ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$ ; pH 7.0) с 96 %  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  в соотношении 4:1).

Монодесмозидный гликозид **1** подавляет всхожесть семян (табл. 1). Бисдесмозидный гликозид **2** существенно не влиял на всхожесть. Через 72 ч всхожесть, количество семян с корнем и длина корня под воздействием SC оказались наибольшими по сравнению теми, на которые действовали растворы гликозидов. Ранее сообщалось, что SC увеличивал у *Nicotiana tabacum* количество корней и их длину, а также количество листьев [23].

Возрастание всхожести семян после их вымачивания в растворе SC было замечено через 24 и 48 ч. Однако через 72 ч всхожесть семян в контрольной группе стала наибольшей (92 %), хотя доли семян с корнем после обработки SC и без таковой оказались одинаковыми (по 92 %).

Комплекс **2**–SC не подавлял всхожесть семян. Уже через 24 ч после обработки этим комплексом она составила 80 % (контроль – 52 %). По сравнению с гликозидом **1**, его комплекс незначительно подавлял всхожесть, т.е. оказался малотоксичным. Интересно отметить, что под действием комплекса **2**–SC длина корня стала наибольшей. Она превысила длину корня в контрольной группе почти в 2 раза. Сами компоненты комплекса по отдельности такого существенного действия не проявили. В отличие от гликозидов, комплекс **1**–SC также существенно способствовал росту корня.

Недавно показано, что оксид азота (II) NO стимулирует гуанилатциклазу, способствующую синтезу cGMP, который приводит к образованию придаточных корней [24]. SC ингибирует фосфодиэстеразу, вызывающую превращение cGMP в GMP [16, 24]. Этим можно объяснить активирующее действие SC на корневую систему растений.

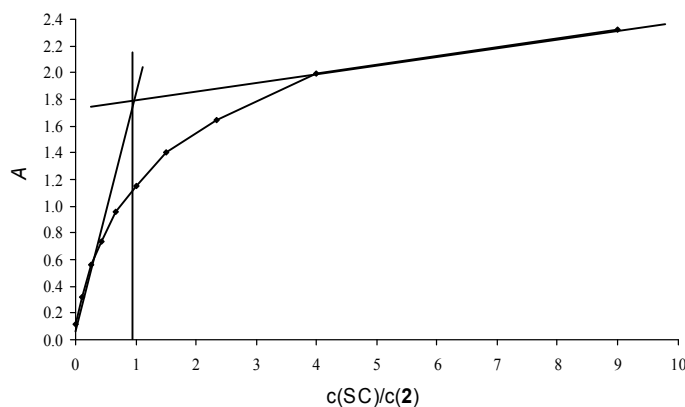


Рис. 3. Зависимость оптической плотности  $A$  от соотношения компонентов изомолярной серии при  $\lambda = 291$  нм:  $c(SC) = 10^{-4}$  М,  $c(2) = 10^{-4}$  М (растворитель — смесь фосфатного буфера ( $Na_2HPO_4-NaH_2PO_4$ ; рН 7.0) с 96 %  $C_2H_5OH$  в соотношении 4:1).

Работа выполнена при поддержке Фонда социально-экономического развития г. Севастополя (2010 и 2011 гг.). Авторы выражают благодарность Кашуцкому С.Н. (ОАО «ИнтерХим», г. Одесса) за предоставленный образец цитрата силденафила.

### ВЫВОДЫ

1. Впервые в водно-спиртовых растворах получены молекулярные комплексы тритерпеновых гликозидов с SC и методом изомолярных серий установлен их состав.
2. Показано, что в водно-спиртовых и водных растворах между гликозидами и SC образуются комплексы одинакового состава, равного 1:1.
3. Наблюдали активирующее действие SC на всхожесть семян через 24 и 48 ч после их обработки. Комплекс 2–SC не подавлял всхожесть семян, а комплекс 1–SC оказался малотоксичным. После вымачивания семян в растворе комплекса 2–SC длина корня почти в 2 раза превысила длину корня в контрольной группе.

## Список литературы

1. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине / [Г.А. Толстикова, Л.А. Балтина, В.П. Гранкина и др.]. – Новосибирск: Гео, 2007. – 311 с.
2. Толстикова Т.Г. На пути к низкодозным лекарствам / Т.Г. Толстикова, А.Г. Толстикова, Г.А. Толстикова // Вестник РАН. – 2007. – Т. 77, № 10. – С. 867-874.
3. Molecular complexation of ivy saponins with some drugs and biologically active substances / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, G. Schroeder, N.I. Borisenko // Functionalized molecules – synthesis, properties and application; ed. V.I. Rybachenko. – Donetsk: Schidnyj vydavnyczyj dim, 2010. – Chapter 4. – P. 85–103.
4. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с триптофаном в водных растворах / Л.А. Яковишин, В.И. Гришконец, Н.В. Епишина [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 2. – С. 270–275.
5. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с L-фенилаланином в водных растворах / Л.А. Яковишин, В.И. Гришконец, Ю.И. Сергиенко [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 3. – С. 255–261.
6. Молекулярное комплексообразование тритерпеновых гликозидов с L-тирозином в водных растворах / Л.А. Яковишин, В.И. Гришконец, Ю.И. Сергиенко [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 1. – С. 232–238.
7. Электроспрей-ионизационная масс-спектрометрия смесей тритерпеновых гликозидов с L-фенилаланином / А.В. Лекарь, Е.В. Ветрова, Н.И. Борисенко [и др.] // Журн. прикл. спектр. – 2011. – Т. 78, № 4. – С. 535–540.
8. Электроспрей-ионизационная масс-спектрометрия смесей тритерпеновых гликозидов с парацетамолом / А.В. Лекарь, Е.В. Ветрова, Н.И. Борисенко [и др.] // Журн. прикл. спектр. – 2010. – Т. 77, № 5. – С. 668–672.
9. Комплексообразование антибиотика левомецитина (хлорамфеникола) с  $\alpha$ -хедерином и хедерасапонином С в условиях ионизации электрораспылением / А.В. Лекарь, Л.А. Яковишин, С.Н. Борисенко [и др.] // Масс-спектрометрия. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 111–114.
10. Материалы X Междунар. семинара по магнитному резонансу (спектроскопия, томография и экология), 2–7 мар. 2010 г., Ростов-на-Дону. – Ростов-на-Дону: Рос. фонд фонд. исслед. – 2010. – С. 29.
11. Яковишин Л.О. Молекулярне комплексоутворення тритерпенового глікозиду  $\alpha$ -хедерину з кофеїном у водному розчині / Л.О.Яковишин // Укр. Bioorg. Acta. – 2010. – Т. 8, № 1. – С. 42–46.
12. Яковишин Л.А. Молекулярное комплексообразование тритерпенового гликозида хедерасапонины С и кофеина в водном растворе / Л.А. Яковишин // Химия природ. соедин. – 2010. – № 5. – С. 629–631.
13. Самоассоциация и комплексообразование тритерпеновых гликозидов и холестерина / Л.А. Яковишин, Н.И. Борисенко, М.И. Руднев [и др.] // Химия природ. соедин. – 2010. – № 1. – С. 45–48.
14. Материалы VII Междунар. научно-технич. конф. «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ–2011», 26–30 апр. 2011 г., Севастополь. – Севастополь: Изд-во СевНТУ. – 2011. – С. 269–270.
15. Влияние виагры и ее комплексов с тритерпеновыми гликозидами на электрическую активность нейронов моллюска *Helix albescens* / О.И. Колотилова, Л.А. Яковишин, И.И. Коренюк [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 2. – С. 96–103.
16. Drewes S.E. Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity / S.E. Drewes, J. George, F. Khan // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 62. – P. 1019–1025.
17. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the european society of cardiology (ESC) and the european respiratory society (ERS), endorsed by the international society of heart and lung transplantation (ISHLT) / N. Galie, M.M. Hoeper, M. Humbert [et al.] // Eur. Heart J. – 2009. – Vol. 30. – P. 2493–2537.

18. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* / А.С. Шашков, В.И. Гришковец, А.А. Лолойко [и др.] // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363–366.
19. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение гликозидов L-A, L-B1, L-B2, L-C, L-D, L-E1, L-G1, L-G2, L-G3, L-G4, L-H1, L-H2 и L-I1 из листьев *Hedera canariensis* / В.И. Гришковец, Д.Ю. Сидоров, Л.А. Яковішин [и др.] // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377–383.
20. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – [5-е изд.]. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
21. Анисимов М.М. О биологической роли тритерпеновых гликозидов / М.М. Анисимов, В.Я. Чирва // Успехи современной биологии. – 1980. – Т. 6, № 3. – С. 351–364.
22. Podolak I. Saponins as cytotoxic agents: a review / I. Podolak, A. Galanty, D. Sobolewska // Phytochem. Rev. – 2010. – Vol. 9. – P. 425–474.
23. Vaidyanathan P. Impact of sildenafil citrate on tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*) / P. Vaidyanathan, K. Francis // Plant Cell Biotech. Mol. Biol. – 2009. – Vol. 10, No. 1/2. – P. 49–56.
24. Pagnussat G.C. Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid-induced adventitious rooting process / G.C. Pagnussat, M.L. Lanteri, L. Lamattina // Plant Physiol. – 2003. – Vol. 132. – P. 1241–1248.

**Яковішин Л.О. Супрамолекулярні комплекси тритерпенових глікозидів з цитратом силденафілу: утворення у водно-спиртових розчинах та біологічна активність / Л.О. Яковішин, В.І. Гришковець, Д.Ю. Білаш, І.Р. Яровий // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 408–414.**

Уперше методом УФ-спектроскопії досліджено молекулярне комплексоутворення цитрату силденафілу з 3-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-арабінопіранозидом хедерагеніну ( $\alpha$ -хедерином) та його 28-*O*- $\alpha$ -*L*-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -*D*-глюкопіранозидовим естером (хедерасAPONІНОМ С) у водно-спиртових розчинах. Встановлено, що глікозиди утворюють комплекси з цитратом силденафілу складу 1:1. Проведено порівняльне вивчення впливу глікозидів та їх комплексів на проростання насіння *Avena sativa* L.

**Ключові слова.** тритерпенові глікозиди,  $\alpha$ -хедерин, хедерасAPONІН С, цитрат силденафілу, супрамолекулярний комплекс, УФ-спектроскопія, *Avena sativa* L., проростання насіння.

**Yakovishin L.A. Supramolecular complexes of the triterpene glycosides with sildenafil citrate: formation in aqueous-alcoholic solutions and biological activity / L.A. Yakovishin, V.I. Grishkovets, D.Yu. Belash, I.R. Yarovoy // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 408–414.**

Using a method UV-spectroscopy, the molecular complexation of sildenafil citrate with hederagenin 3-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside ( $\alpha$ -hederin) and its 28-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl ester (hederasaponin C) in aqueous-alcoholic solutions was for the first time investigated. It was found that the glycosides form complexes with sildenafil citrate in the 1:1 molar ratio. Comparative study of influence of glycosides and complexes on seeds germination *Avena sativa* L. has been made.

**Keywords.** triterpene glycosides,  $\alpha$ -hederin, hederasaponin C, sildenafil citrate, supramolecular complex, UV-spectroscopy, *Avena sativa* L., seeds germination.

Поступила в редакцію 20.02.2011 г.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

<b>Абхаирова Сусанна Велишаевна</b>	РВУЗ Крымский инженерно-педагогический университет, аспирант кафедры трудового обучения
<b>Александров Григорий Григорьевич</b>	Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник
<b>Ананченко Марина Николаевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: mermaid.ka@mail.ru
<b>Андреева Наталья Алексеевна</b>	НИЦ ВС Украины «Государственный океанариум», кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, тел. (0692)- 24-01-87, e-mail: nataliy-andreev@yandex.ru
<b>Аннинская Ирина Николаевна</b>	Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, ведущий инженер отдела Экологии бентоса
<b>Архангельская Елена Валерьяновна</b>	Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико- биологических основ физической культуры, тел. (0652) 251666
<b>Астраханцева Анна Александровна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, специалист кафедры органической и биологической химии, тел. (0652) 602477, e-mail: shapaa86@mail.ru
<b>Бабан Володимир Миколайович</b>	НДІ фізіології імені академіка Петра Богача ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, інженер I категорії відділу загальної фізіології
<b>Бабич Ирина Ивановна</b>	Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, ведущий инженер отдела Экологической физиологии водорослей
<b>Баевский Алексей Михайлович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, младший научный сотрудник кафедры органической и биологической химии, тел. (0652) 602477
<b>Баевский Михаил Юрьевич</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биологической химии, тел. (0652) 602477, e-mail: b_m_y@mail.ru
<b>Баличиева Диляра Валиевна</b>	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности, e-mail: kipubiology@gmail.com.

<b>Бандак Ирина Викторовна</b>	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», студентка 3 курса психолого-педагогического факультета
<b>Белаш Дмитрий Юрьевич</b>	Севастопольский национальный технический университет, студент 4 курса кафедры физики
<b>Беляева Ольга Ивановна</b>	Научно-исследовательский центр Вооруженных сил Украины «Государственный океанариум», кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела экологического обеспечения ВМД, e-mail: olgabelyaeva@yandex.ru
<b>Бокал Інна Іванівна</b>	Військово-медичний центр Південного регіону м. Одеси, лаборант клінічної лабораторної клініки лабораторної діагностики, e-mail: Bokal@list.ru
<b>Брановицкая Татьяна Юрьевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры органической и биологической химии
<b>Бугаенко Людмила Александровна</b>	Республиканское высшее учебное заведение «Крымский инженерно-педагогический университет», доктор биологических наук, профессор кафедры биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности
<b>Бугара Игорь Александрович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий
<b>Букова Анастасия Викторовна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики
<b>Валиев Энвер Велиуллаевич</b>	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», старший преподаватель кафедры технологического образования, e-mail: envervaliev@rambler.ru
<b>Винник Валентина Дмитриевна</b>	Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И. Мечникова, научный сотрудник лаборатории экологии носителей и переносчиков возбудителей особо опасных инфекций
<b>Вистман Евгения Соломоновна</b>	Детский дом «Елочка», психиатр
<b>Волкова Юлия Васильевна</b>	ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», м.н.с. лаборатории возрастной эндокринологии и обмена веществ, e-mail: volkova1804@mail.ru



<b>Высоцкая Наталья Андреевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка 4 курса кафедры экологии и рационального природопользования
<b>Гамма Татьяна Викторовна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, зам. декана биологического факультета по учебной работе, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: tgamma@ukr.net
<b>Гончаренко Юлия Николаевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка 5-ого курса кафедры органической и биологической химии, тел. (0652) 602477
<b>Грабовская Елена Юрьевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, кандидат биологических наук, заведующая кафедрой медико-биологических основ физической культуры, тел. (0652) 256151, e-mail: grabovskaya13@mail.ru
<b>Грінченко Ольга Анатоліївна</b>	НДІ фізіології імені академіка Петра Богача ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, інженер III категорії відділу фізіології кровообігу, тел. (044) 5260521, e-mail: olgrinch@ukr.net
<b>Гришковец Владимир Иванович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой физической и аналитической химии.
<b>Гусев Алексей Николаевич</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры общей химии, тел. (0652) 608-316, e-mail: galex0330@rambler.ru
<b>Данилова Анастасия Олеговна</b>	Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, аспирант кафедры биохимии, тел. (0482) 68-78-75, e-mail: olgaivdan@mail.ru
<b>Дрозд Анастасия Сергеевна</b>	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», студентка 3 курса психолого-педагогического факультета
<b>Еременко Игорь Леонидович</b>	Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова Российской академии наук, академик РАН, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией
<b>Ёлкина Наталья Маратовна</b>	Крымский факультет Запорожского национального университета, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физического воспитания, спорта и здоровья человека, тел. (0652) 51-12-36

<b>Жугина Ольга Владимировна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студентка кафедры биохимии
<b>Жупанов Иван Викторович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент IV курса кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий, e-mail: vanabis@list.ru
<b>Зайцев Георгий Павлович</b>	Национальный институт винограда и вина
<b>Закусило Виктор Николаевич</b>	Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И. Мечникова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии носителей и переносчиков возбудителей особо опасных инфекций
<b>Запорожченко Александр Викторович</b>	Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биохимии, проректор по учебной работе, тел. (0482) 68-78-75
<b>Заяц Алексей Юрьевич</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, студент IV курса кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий, e-mail: zayatc.alex@i.ua
<b>Ибрагимова Эвелина Энверовна</b>	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биологии, экологии и безопасности жизнедеятельности, e-mail: evelina_biol@mail.ru.
<b>Иванова-Ханина Лидия Владимировна</b>	Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет», кандидат сельскохозяйственных наук, ассистент кафедры биотехнологий, генетики и физиологии растений
<b>Карпенко Нина Алексеевна</b>	ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины», кандидат биологических наук, зав. лаборатории репродуктивной эндокринологии, e-mail: nina_karpenko@mail.ru
<b>Катюшина Оксана Валериевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: katsea87@mail.ru
<b>Кацев Андрей Моисеевич</b>	Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского, кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой фармации, тел.(0652) 554-918, e-mail katsev@mail.ru

<b>Качала Вадим Вадимович</b>	Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, старший научный сотрудник
<b>Кириллова Алла Викторовна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
<b>Кобильник Сніжана Миколаївна</b>	Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, аспірант кафедри біохімії, e-mail: snijana.kobylnik@mail.ru
<b>Колотилова Оксана Ивановна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных и биофизики
<b>Конарева Ирина Николаевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей психологии, e-mail: psyphysiol_lab@ukr.net
<b>Конник Олег Владимирович</b>	Севастопольский научно-производственный центр стандартизации, метрологии и сертификации, директор, кандидат химических наук, доцент, e-mail: stmet@sebastopol.ua
<b>Коновальчук Вадим Николаевич</b>	Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, кандидат медицинских наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры, тел. (0652) 225494
<b>Коношенко Светлана Владимировна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии, тел. (0652) 60-80-90, e-mail: konoshenko@crimea.edu
<b>Коренюк Иван Иванович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: tgamma@ukr.net
<b>Костюк Александра Сергеевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: timur328@gmail.com
<b>Кочухова Ольга Михайловна</b>	Университет Упсала (Швеция), профессор факультета психологии
<b>Крестьянишин Игорь Анатольевич</b>	Заведующий лабораторией кафедры земледелия общей и агрономической химии, аспирант ботанического сада
<b>Кривовяз Андрей Александрович</b>	ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», кандидат химических наук; преподаватель кафедры органической химии, тел. (0312) 3-50-91, e-mail: 1977andr13@mail.ru

<b>Криворутченко Юрий Леонидович</b>	Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, заведующий кафедрой микробиологии, профессор, доктор медицинских наук
<b>Кропотов Валерий Алексеевич</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент кафедры физической и аналитической химии, e-mail: vkropotov@crimea.edu
<b>Кулалаєва Наталя Валеріївна</b>	Національний університет кораблебудування ім. адмірала Макарова, кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімії, e-mail: nat_kul_mik@mail.ru
<b>Кулібаба Олена Володимирівна</b>	Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, молодший науковий співробітник кафедри біохімії, e-mail: Lenuka.87@mail.ru
<b>Курьянов Владимир Олегович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, доцент, декан химического факультета, тел. (0652) 602477, e-mail: vladimir@tnu.crimea.ua
<b>Лендел Василий Георгиевич</b>	ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», Профессор, доктор химических наук, заведующий кафедрой органической химии, тел. (0312)-3-50-91
<b>Лесова Людмила Даниловна</b>	Университет культуры и туризма, кандидат биологических наук, доцент, проректор по научной работе
<b>Лискун Ольга Валерьевна</b>	НИЦ ВС Украины «Государственный океанариум», научный сотрудник, тел. (0692)-24-01-87, e-mail: rsliss@front.ru
<b>Манушкіна Тетяна Миколаївна</b>	Миколаївський державний аграрний університет, к.с.-г.н., доцент кафедри землеробства
<b>Маркина Инна Владимировна</b>	СГЭИ ТНУ, старший преподаватель кафедры физической реабилитации, тел. (0652) 253347, e-mail: tnu-fr@rambler.ru
<b>Мартинюк Віктор Семенович</b>	ННЦ «Институт біології» КНУ ім. Т.Г. Шевченка, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біофізики, e-mail: mavis@science-center.net
<b>Минина Елена Николаевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физической реабилитации, e-mail: tnu-fr@rambler.ru
<b>Нагаєва Елена Ивановна</b>	Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры медико-биологических основ физической культуры, тел (0652) 25-61-51

<b>Назар Мохамед Осман Абдель Рахман</b>	Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, аспирант кафедры медико-биологических основ физической культуры, тел. (0652) 25-61-51
<b>Нарманский Владимир Яковлевич</b>	Научно-исследовательская лаборатория «Гелиоритм»
<b>Никофоров Иван Ростиславович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: nikiforoir@mail.ru
<b>Омельченко Александр Владимирович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, ведущий специалист кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий
<b>Остапчук Татьяна Васильевна</b>	НИЦ ВС Украины «Государственный океанариум», младший научный сотрудник, тел. (0692)-24-01-87
<b>Павленко Владимир Борисович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой общей психологии
<b>Панов Денис Александрович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры физической и аналитической химии
<b>Панова Светлана Алексеевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики
<b>Петров Сергій Анатольович</b>	Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, доктор біологічних наук, професор кафедри біохімії, тел. (0482) 687875, e-mail: sergey1951@sana.od.ua
<b>Поддубов Александр Игоревич</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, специалист кафедры органической и биологической химии, тел. (0652) 60-24-77
<b>Пополитов Роман Александрович</b>	Севастопольский экономический гуманитарный институт, ассистент кафедры реабилитации
<b>Постникова Ольга Николаевна</b>	Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, старший лаборант кафедры микробиологии
<b>Протопопов Микола Васильович</b>	ННЦ «Інститут біології», КНУ ім. Т. Шевченка, студент кафедри біофізики, e-mail: kolya.1992@inbox.ru

<b>Пышкин Владимир Борисович</b>	Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и рационального природопользования
<b>Русанов Эдуард Борисович</b>	Институт органической химии НАН Украины, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории рентгеноструктурных исследований, e-mail: xray@bpci.kiev.ua
<b>Русев Иван Трифонович</b>	Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И. Мечникова, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией экологии носителей и переносчиков возбудителей особо опасных инфекций
<b>Семенова Ольга Александровна</b>	Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, старший преподаватель кафедры биохимии, e-mail: masterkristi@rambler.ru
<b>Сидякин Андрей Иванович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, младший научный сотрудник Биотехнологического центра, тел. (0652) 608465, e-mail: acid2302@rambler.ru.
<b>Смирнова Людмила Леонидовна</b>	Научно-исследовательский центр ВС Украины Государственный Океанариум, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
<b>Смоленко Наталья Павловна</b>	ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины», кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории репродуктивной эндокринологии, e-mail: smtaska@rambler.ru
<b>Собко Віктор Михайлович</b>	ННЦ «Інститут біології» КНУ ім. Т.Г. Шевченка, аспірант кафедри біофізики, e-mail: svitya@ua.fm
<b>Темурьянц Наталья Арменаковна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: timur328@gmail.com
<b>Теплицкая Людмила Михайловна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий, тел. (0652) 230392
<b>Тимуш Ирина Яковлевна</b>	Детский дом «Елочка», психолог
<b>Толкачева Наталья Васильевна</b>	Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААНУ, кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник отдела физиолого-биохимических исследований и биотехнологии

<b>Устьянская Ольга Володимирівна</b>	Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, старший лаборант кафедри біохімії, тел. (0482) 687875, e-mail: ustjansky_olga@ukr.net
<b>Фокина Юлия Олеговна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: fokina1985@mail.ru
<b>Хусаинов Денис Рашидович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доцент кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: gangliu@yandex.ru
<b>Цикалов Виктор Валентинович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат химических наук, преподаватель кафедры органической и биологической химии, тел. (0652)602477, e-mail: ts_v_v@mail.ru
<b>Ченчик Юлия Сергеевна</b>	Севастопольский экономический гуманитарный институт, ассистент кафедры реабилитации
<b>Черетаев Игорь Владимирович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: 5612178@ukr.net
<b>Чирва Василий Яковлевич</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической и биологической химии
<b>Чмелева Светлана Ивановна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий, тел (0652) 608-465
<b>Чупахина Татьяна Александровна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, к.х.н., старший преподаватель кафедры органической и биологической химии, тел. (0652) 602-477, e-mail: tachup@rambler.ru
<b>Чуян Елена Николаевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, первый проректор, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: elena-chuyan@rambler.ru
<b>Шашуа Илиас</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры биохимии, тел. (0652) 60-80-90
<b>Шварцова Ольга Володимирівна</b>	Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, студентка 6 курсу кафедри біохімії, e-mail: yolkaximik@ukr.net

<b>Шевченко Вікторія Богданівна</b>	КНУ ім. Т. Шевченка, кандидат ф-м наук, науковий співробітник кафедри фізики металів фізичного факультету, e-mail: shevchenko@univ.kiev.ua
<b>Шейх-Заде Мамет-Исмет</b>	РВУЗ «Крымский инженерно-педагогический университет», кандидат физико-математических наук, доцент кафедры технологического образования
<b>Шелудько Анна Борисовна</b>	ОАО КНПО «Иодобром», кандидат химических наук, старший научный сотрудник
<b>Шехоткин Александр Владимирович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных и биофизики
<b>Шульгин Виктор Федорович</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей химии, тел. (0652)-60-81-60, e-mail: vshul@crimea.edu
<b>Юркова Ирина Николаевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, кандидат технических наук, старший научный сотрудник Биотехнологического центра, тел. (0652) 608465, e-mail: btc@tnu.crimea.ua
<b>Яковишин Леонид Александрович</b>	Севастопольский национальный технический университет, кандидат химических наук, доцент кафедры физики (цикл химии), e-mail: chemsevntu@rambler.ru.
<b>Яковчук Татьяна Валентиновна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, соискатель кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: gangliu@yandex.ru
<b>Янчук Петро Іванович</b>	НДІ фізіології імені академіка Петра Богача ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, професор кафедри фізіології людини і тварин, завідувач відділу фізіології кровообігу, тел. (044) 5260327, e-mail: Yanchuk49@ukr.net
<b>Янчукова Ганна Олександрівна</b>	Одеський національний університет імені І.І.Мечникова, молодший науковий співробітник кафедри біохімії, e-mail: Ann18@list.ru
<b>Ярмолюк Наталья Сергеевна</b>	Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, аспирант кафедры физиологии человека и животных и биофизики, e-mail: nat_yarm@mail.ru
<b>Яровой Игорь Романович</b>	Севастопольский национальный технический университет, студент 4 курса кафедры физики



## СОДЕРЖАНИЕ

### ИМЕНА И ДАТЫ

(к 50-летию кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврического национального университета им. В.И. Вернадского)

**Чуян Е.Н.**

ИСТОРИЯ КАФЕДРЫ ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ И БИОФИЗИКИ... 3

**Темурьянц Н.А.**

КРЫМСКАЯ ШКОЛА МАГНИТОБИОЛОГИИ ..... 22

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

**Ананченко М.Н., Чуян Е.Н.**

КОЖНАЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В УСЛОВИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ У ИСПЫТУЕМЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ..... 30

**Андреева Н.А., Остапчук Т.В., Лискун О.В.**

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ УСЛОВНО ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ ДЕЛЬФИНОВ АФАЛИН (*TURSIOPS TRUNCATUS*), ОБИТАЮЩИХ В СЕВАСТОПОЛЬСКОМ ОКЕАНАРИУМЕ ..... 50

**Баличиева Д.В.**

ИЗУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ОРГАНИЗМЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ ..... 62

**Беляева О.И.**

ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА БАКТЕРИЙ В РАЙОНЕ ПОСТУПЛЕНИЯ ЛИВНЕВОГО СТОКА В БУХТУ КАЗАЧЬЮ (ЧЁРНОЕ МОРЕ) ..... 67

**Бугаенко Л.А., Иванова-Ханина Л.В.**

МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*. ..... 73

**Букова А.В.**

ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИКИ ДЫХАНИЯ У ЖЕНЩИН ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА..... 83

**Волкова Ю.В.**

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В МОЗГЕ И ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ ..... 91

**Грабовская Е.Ю., Нагаева Е.И., Назар М.О.**

РОЛЬ ЭМИ КВЧ В КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ И ТИПОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА СПОРТСМЕНОВ ..... 97

<b>Грінченко О.А., Бабан В.М., Янчук П.І.</b> ВПЛИВ ТАУРИНУ НА ІОННИЙ СКЛАД ШЛУНКОВОГО СОКУ ПРИ СТИМУЛЯЦІЇ СЕКРЕЦІЇ ГІСТАМІНОМ У СОБАК.....	107
<b>Данилова А.О., Запорожченко О.В.</b> ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ВИСОКОВУГЛЕВОДНИХ ДОБАВОК НА СТАН ЩУРІВ З ІНДУКОВАНИМ АПЛЛОКСАНОМ ДІАБЕТОМ .....	117
<b>Ёлкина Н.М., Коношенко С.В., Шашуа Илиас, Жугина О.В.</b> ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА .....	124
<b>Ибрагимова Э.Э., Бандак И.В., Дрозд А.С.</b> ФЛУКТУИРУЮЩАЯ АСИММЕТРИЯ ЛИСТЬЕВ MORUS ALBA L. КАК БИОИНДИКАТОР АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ УРБООКОСИСТЕМ .....	129
<b>Карпенко Н.О., Смоленко Н.П.</b> РІВЕНЬ ТРИВОЖНОСТІ ДОРОСЛИХ ЩУРІВ, ЩО БУЛИ ПІДДАНІ У РАННІЙ ПОСТНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД ДІЇ СТРЕСУ ТА СПОЛУК З ЕСТРОГЕНОВОЮ АКТИВНІСТЮ .....	136
<b>Кацев А.М., Курьянов В.О., Чупахина Т.А., Чирва В.Я.</b> УСТАНОВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ СТРУКТУРА-АКТИВНОСТЬ (SAR) ДЛЯ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛ-О-В-D-ГЛЮКОЗАМИНИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕСТА НА СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ.....	143
<b>Кириллова А.В., Панова С.А., Лесова Л.Д.</b> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА .....	150
<b>Кобильник С.М., Кулібаба О.В., Янчукова А.О., Петров С.А.</b> АКТИВНІСТЬ МУЛЬТИЕНЗИМНИХ ПІРУВАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО І α- КЕТОГЛУТАРАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСІВ ЗА УМОВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ .....	157
<b>Конарева И.Н.</b> ОСОБЕННОСТИ КАРДИОИНТЕРВАЛОГРАФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ЛИЦ С ТИПАМИ ПОВЕДЕНИЯ А И Б .....	161
<b>Костюк А.С.</b> НОЦИЦЕПЦИЯ МОЛЛЮСКОВ <i>HELIX ALBESCENTIS</i> ПРИ ЭКРАНИРОВАНИЯ В МЕДНОМ ЭКРАНЕ .....	169
<b>Крестьянишин И.А.</b> ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ ПОЧВЫ В ЛЕСНЫХ КУЛЬТУРАХ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> НА ЯЙЛЕ.....	179
<b>Манушкіна Т.М., Бугаєнко Л.О.</b> ТЕРМОТЕРАПІЯ IN VITRO РОСЛИН <i>LAVANDULA ANGUSTIFOLIA MILL.</i> .....	186

<b>Маркина И.В.</b> ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ И БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОРГАНИЗМА ДЕВОЧЕК С ДИФFUЗНОЙ МЫШЕЧНОЙ ГИПОТОНИЕЙ.....	195
<b>Минина Е.Н.</b> ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У СТУДЕНТОК С НЕДОСТАТОЧНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТИМУЛИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ .....	203
<b>Нарманский В.Я.</b> ДИНАМИКА ВЕКТОРОВ ПЛАНЕТНЫХ СКОРОСТЕЙ И ПРОЦЕССЫ В БИОСФЕРЕ .....	214
<b>Пополитов Р.А. , Коновальчук В.Н., Архангельская Е.В., Ченчик Ю.С.</b> ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РАЙТТЕРАПИИ КАК СРЕДСТВА КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА У ДЕТЕЙ, СТРАДАЮЩИХ ДЦП .....	224
<b>Пышкин В.Б., Высоцкая Н.А.</b> ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИЙ ОБЗОР ПРЯМОКРЫЛЫХ ( <i>INSECTA</i> , <i>ORTHOPTERA</i> ) КРЫМА.....	231
<b>Русев И. Т., Закусило В.Н., Винник В.Д.</b> КРОВСОСУЩИЕ КАМАРЫ УРБАНИЗИРОВАННЫХ БИОЦЕНОЗОВ И ИХ РОЛЬ В ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСОВ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА .....	240
<b>Семенова О.О.</b> ДИНАМІКА НАКОПИЧЕННЯ КАДМІЮ У ТКАНИНАХ ЧОРНОМОРСЬКОЇ МІДІЇ ЗА РІЗНИХ УМОВ ЙОГО НАДХОДЖЕННЯ В ОРГАНІЗМ .....	249
<b>Смирнова Л.Л., Бабич И.И., Аннинская И.Н.</b> ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В БАССЕЙНАХ С МОРСКИМИ МЛЕКОПИТАЮЩИМИ .....	254
<b>Sobko V.M., Martynyuk V.S., Shevchenko V.B., Protopopov M.V.</b> EFFECT OF ELECTROMAGNETIC FIELD WITH 8 Hz FREQUENCY ON THYMOCYTES NUCLEUSES INJURY CAUSED BY NANOSTRUCTURED SILICON AND HYDROGEN PEROXIDE.....	261
<b>Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С., Ярмолук Н.С., Шехоткин А.В.</b> ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ФАКТОРОВ НА УЛЬТРАДИАННУЮ РИТМИКУ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАНАРИЙ <i>DUGESIA TIGRINA</i> .....	268
<b>Теплицкая Л.М., Заяц А.Ю., Юркова И.Н., Сидякин А.И.</b> РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР <i>CLEMATIS VITALBA</i> НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, СОДЕРЖАЩИХ МАРГАНЕЦ.....	279

<b>Теплицкая Л.М., Юркова И.Н., Сидякин А.И., Жупанов И.В.</b> ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ ДОННИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО ( <i>MELILOTUS OFFICINALIS</i> (L.) PALL.) И ЕЕ ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ.....	284
<b>Устянська О.В., Бокал І.І., Шварцова О.В., Петров С.А.</b> РЕГУЛЯЦІЯ ТІАМІНОМ І ЙОГО ПОХІДНИМИ АКТИВНОСТІ КАТЕПСИНУ L .....	291
<b>Фокина Ю.О., Кочухова О. М., Тимуш И.Я., Вистман Е.С., Павленко В.Б.</b> ДИНАМИКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ СИРОТ В ВОЗРАСТЕ ДО 24 МЕСЯЦЕВ.....	298
<b>Черетаев И.В., Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И., Катюшина О.В., Гамма Т.В.</b> ЗАВИСИМОСТЬ ВЛИЯНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ СОЛЕЙ ОТ СОСТОЯНИЯ КАЛЬЦИЕВОЙ СИСТЕМЫ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ.....	304
<b>Чмелева С.И., Брановицкая Т.Ю., Панов Д.А., Омельченко А.В., Бугара И.А.</b> КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ <i>FATSHEDERA LIZEI</i> – ПРОДУЦЕНТЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ .....	313
<b>Чуян Е.Н., Никифоров И.Р.</b> ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ В УСЛОВИЯХ ПРЕВЕНТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ .....	321
<b>Яковчук Т.В., Катюшина О.В., Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И., Гамма Т.В., Черетаев И.В., Колотилова О.И.</b> ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕЙ САЛИЦИЛОВОЙ И АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТ .....	332

## **ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ**

<b>Баевский А.М., Цикалов В.В., Баевский М.Ю., Шелудько А.Б.</b> БОРНЫЕ КИСЛОТА В РЕАКЦИЯХ КОНДЕНСАЦИИ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ С АРОМАТИЧЕСКИМИ АМИНАМИ .....	339
<b>Валиев Э.В., Шейх-Заде М.И.</b> ОЦЕНКА ЭНЕРГИИ ЦИС-ТРАНС-ПЕРЕХОДА В 2-НИТРОФЕНОЛЕ .....	347
<b>Гусев А.Н., Шульгин В.Ф., Постникова О.Н., Криворутченко Ю.Л.</b> 5-(2'-ГИДРОКСИФЕНИЛ)-2-(2'-ПИРИДИЛ)-7,8-БЕНЗО-6,5-ДИГИДРО-1,3,6- ТРИАЗАИНДОЛИЗИНЫ И КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЦИНКА НА ИХ ОСНОВЕ: СИНТЕЗ И ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ .....	352
<b>Кривовяз А.А., Лендел В.Г.</b> СИНТЕЗ АЦЕТАМИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА И ПРОГНОЗ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ.....	360

<b>Кропотов В.А.</b> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ПАРАМЕТРОВ КРИВОЙ ОСАДИТЕЛЬНОГО ТИТРОВАНИЯ.....	367
<b>Кулаласва Н.В.</b> ВИЗНАЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ «ОРГАНІЗОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА» ПІД ЧАС ДОСЛІДЖЕННЯ СИСТЕМИ «ПОЛІЕЛЕКТРОЛІТ – ВОДА» .....	375
<b>Поддубов А.И., Цикалов В.В., Баевский М.Ю.</b> СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 1-АЛКИЛ-2-АМИНОАЛКИЛБЕНЗИМИДАЗОЛА .....	385
<b>Толкачева Н.В., Зайцев Г.П., Качала В.В., Гришковец В.И., Чирва В.Я.</b> СТРОЕНИЕ ОСНОВНОГО СТЕРОИДНОГО ГЛИКОЗИДА СОЦВЕТИЙ <i>ALLIUM CYRILLII</i> (ALLIACEAE).....	390
<b>Чупахина Т.А., Гончаренко Ю.Н., Курьянов В.О., Астраханцева А.А.</b> ОСОБЕННОСТИ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИТИЧЕСКОГО ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ.....	396
<b>Шульгин В.Ф., Абхаирова С.В., Конник О.В., Русанов Э.Б., Александров Г.Г., Еременко И.Л.</b> КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АНИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ ЕВРОПИЯ С 3-МЕТИЛ-1-ФЕНИЛ-4-ФОРМИЛПИРАЗОЛОНОМ-5 .....	402
<b>Яковишин Л.А., Гришковец В.И., Белаш Д.Ю., Яровой И.Р.</b> СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ С ЦИТРАТОМ СИЛДЕНАФИЛА: ОБРАЗОВАНИЕ В ВОДНО-СПИРТОВЫХ РАСТВОРАХ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ.....	408
<b>СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ</b> .....	415
<b>СОДЕРЖАНИЕ</b> .....	425