

ПОДСЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»

Роль внутриклеточного Ca^{2+} в частотной адаптации потенциала действия предсердия беломорской трески *Gadus morhua*

Абрамов А.А., Кузьмин В.С. (Москва, herwind@list.ru)

Длительность потенциала действия (ПД) в сердце снижается при увеличении частоты сокращений – это явление носит название частотной адаптации (ЧА) ПД. ЧА лежит основе приспособления сердечной мышцы к различным условиям работы. При ЧА происходят изменения длительности 2-ой и 3-й фазы ПД. В основе ЧА лежит изменение кинетики и проводимости потенциал-чувствительных K^+ - и Ca^{2+} -каналов (VASS) и др. Одним из механизмов ЧА является Ca^{2+} -зависимое ингибирование потенциал-чувствительных Ca^{2+} -каналов. В этом механизме участвует внутриклеточный Ca^{2+} , поступающий во время ПД в цитоплазму из саркоплазматического ретикулума (СПР) и через VASS. Вклад Ca^{2+} , поступающего в цитоплазму из СПР, в ингибирование VASS и ЧА варьирует у разных видов животных. Механизмы частотной адаптации широко исследованы у млекопитающих, однако, у низших позвоночных, таких как рыбы, практически не изучены. Цель данной работы заключалась в исследовании вклада внутриклеточного Ca^{2+} в формирование частотной адаптации ПД у рыб.

Работа выполнена на беломорской биологической станции МГУ им.Перцова (ББС). Опыты проводили на предсердной ткани беломорской трески *Gadus morhua*, отловленной в летний период в районе ББС. Трансмембранные ПД регистрировали с помощью стандартной микроэлектродной техники с эндокардиальной поверхности препарата предсердия. Препарат перфузировали модифицированным для морских рыб раствором Кребса-Хензеляйте при 10°C. С помощью стимулирующих электродов навязывали ритм в диапазоне 1-2,5 Гц. Начиная с 1 Гц межстимуляторный интервал (S1S1) снижали с шагом 0,2 Гц, до тех пор пока сохранялось соотношение стимул/ответ =1. Оценивали зависимость длительности 2-ой и 3-ей фазы ПД от частоты работы препарата в контрольных условиях и при действии блокатора рианодиновых рецепторов (рутениума красного) используемого в концентрации 1 мкМ. Для этого рассчитывали длительность ПД на разных уровнях реполяризации (ДПД25%, ДПД50%, ДПД90%). Рутениум красный блокирует рианодиновые рецепторы (каналы) сердца, в результате чего во время ПД Ca^{2+} не выбрасывается из СПР в цитоплазму и снижается степень блокирования VASS. По расхождению кривых «частота стимуляции-ДПД» в контроле и при действии рутениума можно оценить вклад Ca^{2+} саркоплазматического ретикулума в ЧА.

Показано, что при увеличении частоты стимуляции от 1 до 2,5 Гц ДПД в предсердии трески значительно снижается. Наибольшее снижение наблюдается на уровне ДПД25% – 60%, на уровне ДПД50% – 50%, наименьшее на уровне ДПД90% – 40% от исходной длительности. Таким образом наибольшее изменение ДПД происходит на уровне 2-ой фазы реполяризации, т.е. тогда когда выражен Ca^{2+} -ток. Это значит, что ЧА в предсердии рыб имеет преимущественно Ca^{2+} механизм. При действии рутениума красного зависимость ДПД25%, ДПД50% и ДПД90% приобретает одинаковый характер (все три параметра при увеличении частоты стимуляции с 1 до 2,5 Гц снижаются на 50%). Ход кривых «частота стимуляции-ДПД» приобретает линейный характер. Можно предположить, такие изменения частотной адаптации ПД происходят в результате снижения Ca^{2+} -зависимого ингибирования Ca^{2+} -каналов. Авторы выражают благодарность руководству беломорской биологической станции МГУ за всестороннюю помощь в проведении исследований.

**Влияние уровня ампутации на регенерацию задней конечности
шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* в период метаморфоза**
Агильон-Гуттиеррес Д.Р. (Москва, davidrag@gmail.com)

Проблема регенерации чрезвычайно интересна для биологии развития, поскольку позволяет изучать повторные морфогенезы в течение одного онтогенеза. Известно, что среди позвоночных животных наиболее выражена способность к репаративной регенерации у амфибий. В онтогенезе эта способность выражена по-разному у хвостатых и бесхвостых амфибий: Urodela могут восстанавливать утраченный орган (например, конечность) в течение всей жизни, а Anura – только в личиночный период. У взрослых бесхвостых амфибий вместо утраченной конечности образуется т.н. спикула – хрящевой вырост, одетый мягкими тканями.

В нашей работе мы проследили влияние уровня ампутации на регенерационные способности шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* в период метаморфозного климакса (стадия 64 по таблицам нормального развития – Nieuwkoop, Faber, 1956). Животным, предварительно наркотизированным MS-222 (0,03%), ампутировали правую заднюю конечность перпендикулярно проксимо-дистальной оси, оставляя $\frac{1}{4}$ проксимальной части бедра (1 группа) или $\frac{3}{4}$ проксимальной части бедра (2 группа). Каждую группу делили на контрольных животных и животных, которым 3 раза в неделю инъецировали по 0,2 мкл физиологического раствора в область раны, для поддержания начальной фазы регенерационного процесса – воспалительного процесса, поскольку известно, что постоянной травматизацией усиливает регенерационную способность. Темп регенерации регистрировали, фотографируя под биноклем 1 раз в неделю регенерирующую конечность, строго соблюдая антерио-постериорную и проксимо-дистальную параллельность конечности плоскости столика бинокля, что позволило в дальнейшем проводить морфометрический анализ регенерата.

Результаты показали, что у всех контрольных животных первой группы не происходило восстановления утраченной части конечности, тогда как у 14,2 % животных, которым периодически водили физраствор, наблюдали образование спикулы на месте ампутированной конечности. Во второй группе после ампутации конечности на более проксимальном уровне, все контрольные и инъецированные животные образовали спикулоподобные структуры, причем размер регенерировавших структур в контрольной группе был меньше, чем у животных, которым проводили периодически инъекции в область раны. Таким образом, к концу метаморфозного климакса способность к восстановлению утраченной конечности шпорцевые лягушки зависит от уровня ампутации. Периодическое травматизирование постампутированной раны повышало регенерационные способности. Дальнейший гистологический анализ регенератов позволит сопоставить степень дифференцировки образовавшихся регенератов.

**Совершенствование функциональных систем у боровков в биогеохимических
условиях Чувашского Центра с назначением биогенных соединений**
Архипова М.Н. (Чебоксары, merinochek@rambler.ru)

В последние годы значительный интерес проявляется к использованию цеолитов Алатырского месторождения Чувашской Республики, катионный состав которых значительно отличается от известных и хорошо изученных месторождений вулканического и вулканогенного типа. Поэтому обоснование спектра биогенного влияния этих цеолитов в сочетании с другими иммунокорректорами на организм продуктивных животных с учетом биогеохимических особенностей различных экологических субрегионов Волго-Вятской зоны является актуальной проблемой современной биологической науки и практики. В этой связи целью нашей работы явилось выявление особенностей совершенствования функциональных систем у

боровков, содержащихся в биогеохимических условиях Чувашского Центра с назначением «Трепела», «Суvara» и «Полистима».

Проведены две серии научно-хозяйственных опытов и лабораторных экспериментов с использованием 48 боровков-отъемышей по 8 животных в каждой группе. В обеих сериях боровков первой группы (контроль) с 60- до 300-дневного возраста (продолжительность наблюдений) содержали на основном рационе (ОР). В первой серии опытов животным второй и третьей групп на фоне ОР ежедневно скармливали «Трепел» в дозе 1,25 г/кг массы тела (м.т.), третьей группы дополнительно применяли «Сувар» в дозе 25-50 мг/кг м.т. в течение каждых 20 дней с 10-дневными интервалами до 240-дневного возраста. Во второй серии боровкам второй и третьей групп на фоне ОР ежедневно скармливали «Трепел», второй дополнительно – «Сувар» в указанных выше дозах. Животным третьей группы в 60-, 180- и 240-дневном возрасте дополнительно внутримышечно вводили «Полистим» в дозе соответственно 0,1, 0,03 и 0,03 мг/кг м.т. В обеих сериях опытов у 5 животных из каждой группы на 60-, 120-, 180-, 240- и 300-й день жизни изучали клинико-физиологическое состояние, рост тела, гематологический, биохимический и иммунологический профили организма. У декапитированных в 60-, 210- и 300-дневном возрасте боровков определяли органолептические, биохимические и спектрометрические показатели мяса; весовые и морфометрические показатели структур вилочковой, щитовидной желез и надпочечников.

Впервые в биогеохимических условиях Чувашского Центра выявлены особенности становления и развития функциональных систем у боровков при комбинированном назначении «Трепела» с «Суваром» и «Трепела» с «Полистимом». Получены новые данные, позволяющие раскрыть механизмы проявления отдельных процессов физиологии дыхания, кровообращения, крови, обмена веществ, сердечно-сосудистой, кроветворной, иммунной и эндокринной систем у животных во взаимосвязи с экспериментальными условиями. Экспериментально доказана экологическая безопасность испытуемых биогенных веществ и индифферентность мясных туш к ним. Разработаны физиологически обоснованные и экономически оправданные схемы комбинированного применения боровкам «Трепела» с «Суваром» и «Трепела» с «Полистимом» с учетом биогеохимических особенностей Чувашского Центра, способствующего более полной реализации наследственно-обусловленного потенциала неспецифической резистентности и продуктивности организма, а также производству экологически чистой мясной продукции.

Исследование молекулярных механизмов гормональной регуляции водной проницаемости базолатеральной мембраны клеток собирательных трубок почки крысы и мыши

Батурина Г.С. (Новосибирск, baturina@yandex.ru)

Одним из главных факторов поддержания водно-солевого баланса в организме млекопитающих является регуляция реабсорбции воды в собирательных трубках почки под действием вазопрессина. Открытие белков-аквапоринов (AQP), формирующих водные каналы в плазматической мембране, стало важным событием для понимания механизмов транспорта воды в собирательных трубках почки. Согласно современным представлениям, в реакции на вазопрессин участвует AQP2, опосредующий транспорт воды через апикальную мембрану клеток собирательных трубок, и аквапорины 3 и 4 типов, локализованные в базолатеральной мембране. В предыдущих работах нашей исследовательской группой было показано, что водная проницаемость базолатеральной мембраны клеток собирательных трубок также увеличивается под действием вазопрессина. Поскольку под действием вазопрессина возрастает внутриклеточная концентрация как цАМФ так и Ca^{++} , механизмы регуляции аквапоринов апикальной и базолатеральной клеточных мембран может быть различны. Целью данной работы

являлось исследование роли вторичных посредников цАМФ и Ca^{++} в регуляции водной проницаемости (Pf) базолатеральной мембраны клеток собирательных трубок наружного мозгового вещества почки мыши и крысы.

Инкубация изолированных собирательных трубок наружного мозгового вещества почки с селективным агонистом V_2 рецепторов вазопрессина (dDAVP) приводила к повышению водной проницаемости как у крыс так и у мышей. Этот эффект устранялся прединкубацией канальцев с хелатором Ca^{++} ВАРТА-АМ у животных обоих видов. В то же время, ВАРТА-АМ не влияла на вызванное dDAVP повышение экспрессии AQP3 в базолатеральной мембране клеток собирательных трубок крысы. Хлористая ртуть вызывала достоверное подавление Pf собирательных трубок крыс, но не оказывала эффекта на водную проницаемость собирательных трубок почки мыши. Инкубация изолированных фрагментов собирательных трубок крысы и мыши с мембранопроникающим аналогом цАМФ (дбцАМФ) так же, как и dDAVP, приводила к повышению Pf базолатеральной мембраны. По предварительным данным, этот эффект сохранялся после обработки канальцев колхицином. Это наблюдение может свидетельствовать о том, что транспортные механизмы для аквапоринов базолатеральной мембраны могут отличаться от механизмов транспорта AQP2.

Полученные нами данные позволяют предположить, что в механизме регуляции водной проницаемости базолатеральной мембраны собирательных трубок ключевую роль играют как цАМФ-зависимый, так и кальций-зависимый пути трансдукции гормонального сигнала вазопрессина.

Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты РФФИ № 09-04-00197-а; № 08-04-00541-а) и гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-1647.2008.4).

Психосоциальные и физиологические факторы субъективной оценки запаховой привлекательности студентов противоположного пола

Бедарева А.В. (Кемерово, leona511@mail.ru)

Гипотеза о реальном вкладе хемосигналов в формирование репродуктивного поведения людей предполагает, что осознанная или неосознанная оценка запахов друг друга варьирует в зависимости от фаз менструального цикла, репродуктивного здоровья, половой мотивации и личного сексуального опыта.

Влияние этих факторов на субъективную оценку интенсивности и привлекательности запаха пота, собранного в подмышечной впадине на фильтровальную бумагу, было исследовано у 46 юношей и 19 девушек – студентов университета, которые выступали в роли и доноров, и реципиентов запаховых проб. Установлено, что фаза менструального цикла значимо влияет на совпадение субъективных оценок по шкале неприятный/приятный, которые разные реципиенты давали одним и тем же запаховым образцам. Их совпадение в нерцептивном состоянии, сменяется несовпадением в рецептивную фазу цикла, что свидетельствует об увеличении вклада индивидуальных свойств реципиента в изменчивость запаховых оценок.

У девушек в нерцептивном состоянии отмечается обратная взаимозависимость между силой и привлекательностью мужского запаха. В рецептивном состоянии они становятся толерантными к интенсивным мужским запахам. При нерегулярных менструальных циклах запах девушек, оценивается юношами, как менее привлекательный. Вместе с тем, сами девушки с нарушениями циклов выше оценивают образцы мужского запаха по сравнению с репродуктивно здоровыми девушками. Первый половой опыт снижает субъективные оценки, которые девушки дают запаховым образцам юношей. Молодые люди, наоборот, повышают свои оценки после

приобретения опыта. При анализе корреляций между взаимными оценками запаховой привлекательности юношей и девушек, показан прогрессивный рост этой корреляции по мере повышения биологической и социальной значимости поиска оптимального партнера.

Таким образом, вся совокупность факторов, влияющих на оценку привлекательности запаховых проб, хорошо согласуется с требованиями, предъявляемыми к репродуктивно значимым невербальным сигналам. Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта по Программе междисциплинарных исследований СО РАН (грант № 94).

Влияние структурного аналога вазопрессина АВП(6-9) на поведение белых крыс

Белякова А.С. (alixletter@yandex.ru)

Наличие у большинства гормонов пептидной природы ряда экстрагормональных функций известно с 60-х годов XX века. Это гипоталамические гормоны (люлиберин, тиролиберин, меланостатин, соматостатин и др.), некоторые тахикинины (вещество Р, нейротензин и др.), бомбезиноподобные пептиды, ангиотензин, а также гипофизарные гормоны: вазопрессин, окситоцин, кортикотропин и др. Так, влияние аргинин-вазопрессина на процессы обучения и памяти и ответные реакции организма на действие стрессогенных факторов в данный момент подтверждено множеством тестов. Также продукты протеолиза АВП могут проявлять высокую поведенческую активность. В данной работе было исследовано влияния острого введения синтетического аналога фрагмента АВП(6-9) тетрапептида Ас-D-SPRG на ориентировочно-исследовательское поведение, уровень тревожности и степень депрессивности белых крыс.

Работа проводилась на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 220-250 г. Препарат вводили интраназально в объеме 1 мкл/10 г массы тела за 5 мин до тестирования в дозах 10,0 мкг/кг, 1,0 мкг/кг, 0,1 мкг/кг и 0,01 мкг/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя (дистиллированной воды). Ориентировочно-исследовательское поведение (ОИР) животных исследовали в тестах «открытое поле» («бесстрессорная» и «стрессогенная» модификации) и «норковая камера», уровень тревожности – в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и «светлая-темная камера», степень депрессивности животных – в тесте «принудительное плавание».

Ас-D-SPRG при интраназальном введении в дозах 10,0 мкг/кг; 1,0 мкг/кг, 0,1 мкг/кг и 0,01 мкг/кг вызывал угнетение ориентировочно-исследовательского поведения, которое было наиболее выражено в тесте «норковая камера»: введение Ас-D-SPRG приводило к достоверному уменьшению суммарного количества стоек и количества обследованных отверстий. Введение данного тетрапептида во всех использованных дозах приводило к повышению уровня тревожности животных, выраженному в снижении времени пребывания на свету, снижении вертикальной активности и количества выходов на открытые рукава «приподнятого крестообразного лабиринта». Ас-D-SPRG, кроме того, оказывал ярко выраженное антидепрессантное действие. В тесте «принудительное плавание» наблюдалось увеличение суммарного времени активного и пассивного плавания, уменьшение суммарного времени иммобилизации, среднего времени периода иммобилизации. Количество периодов активного плавания было увеличено. То, что у контрольных животных иммобилизация наступает раньше и длится дольше, свидетельствует о развитии у этих крыс состояния «поведенческого отчаяния», которое можно рассматривать как экспериментальный аналог отчаяния, состояния безнадежности и пессимизма в клинических проявлениях депрессивного синдрома. Снижение времени иммобилизации, увеличение времени активного и пассивного плавания при введении Ас-D-SPRG животным говорят о том, что данный тетрапептид обладает антидепрессантным действием.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что замена аминокислотного остатка Cys⁶ в молекуле АВП(6-9) на D-Ser привела к значительному снижению ориентировочно-исследовательского поведения и повышению уровня тревожности животных. Данный тетрапептид, однако, обладал выраженным антидепрессантным действием.

Скрининг препаратов применяемых при лечении дисциркуляторной энцефалопатии

Белякова О.А. (Нижний Новгород, olbel86@yandex.ru)

Проблема сосудистых поражений головного мозга диктует необходимость всестороннего изучения механизмов возникновения заболеваний нервной системы, в том числе дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ). Действие препаратов, применяемых при лечении ДЭ на разных стадиях заболевания различно.

Нами, методом микроэлектрофореза, изучалась ЭФПЭ венозной крови у 120 больных ДЭ (1-я, 2-я и 3-я степень тяжести) при фармакотерапии. Все пациенты в течение 10 дней получали базовую терапию (пираретам и кавинтон) – 1-я группа; дополнительно цитофлавин (2-я группа), дельтаран (3-я группа) и геримакс-энерджи (4-я группа).

Было установлено, что ЭФПЭ, сниженная перед началом лечения у всех больных по сравнению с условно здоровыми донорами ($p < 0,05$), восстанавливалась после курса терапии до их уровня во всех группах только у больных ДЭ с 1-й и 2-й степенью тяжести заболевания. У больных с 3-й степенью тяжести ДЭ в конце курса терапии ЭФПЭ восстанавливалась до уровня нормы только в группе с применением дельтарана. В меньшей степени была выявлена эффективность при использовании цитофлавина, и было неэффективным применение геримакса-энерджи.

Обсуждая полученные результаты, следует указать, что регистрация перемещения клеток крови в электрическом поле позволяет оценить не только их электрокинетический потенциал, но и морфофункциональное состояние мембран. Снижение отрицательного заряда и, как, следствие, снижение ЭФПЭ, определяет повышение агрегабельности эритроцитов, свидетельствуя о нарушении реологических свойств крови тем самым, изменяя не только вязкость и структуру крови, но и иницируя процесс тромбообразования. На основании полученных результатов следует заключить, что измерение ЭФПЭ крови больных ДЭ позволяет оценить эффективность фармакотерапии в отношении восстановления гомеостаза не только крови, но и всего организма.

Влияние модифицированных форм пролил-глицил-пролина (PGPR и PGPL) на секреторную активность тучных клеток крыс

Бондаренко Н.С. (Москва, n.s.bondarenko@gmail.com)

Известно, что простейшие пролин- и глицинсодержащие пептиды (PGP, GP, PG) обладают широким спектром биологической активности, в том числе выраженным противоязвенным эффектом и уменьшением нарушения микроциркуляции в брыжейке крыс при стрессе и воспалении. В развитии этих нарушений большая роль принадлежит провоспалительным и вазоактивным медиаторам тучных клеток (ТК). Ранее мы показали, что из трёх исследованных глипролинов (PGP, GP, PG) только PGP оказывал стабилизирующее действие на ТК, предотвращая их активацию синуктеном. В настоящее время привлекают внимание модифицированные формы глипролинов, которые могут обладать специфическими биологическими эффектами. Данные о влиянии модифицированных форм глипролинов на ТК отсутствуют.

Целью настоящей работы было исследование влияния пептидов PGPR и PGPL на секреторную активность перитонеальных ТК крыс. В качестве активатора ТК использовали синактен – фрагмент адренокортикотропного гормона (АКТГ₁₋₂₄). Степень активации ТК оценивали морфометрическим анализом плёночных препаратов брыжейки крыс. Для этого на препараты апплицировали 0,2 мл исследуемого пептида, $6 \cdot 10^{-5}$ М (в контроле – 0,2 мл 0,85% NaCl). После инкубации при комнатной температуре (15 мин) на препараты апплицировали 0,2 мл синактена, $2 \cdot 10^{-5}$ М и также инкубировали 15 мин. Затем препараты фиксировали в формалине и окрашивали толуидиновым синим. Результаты показали, что предварительная инкубация препаратов с PGP препятствует активации ТК синактеном – индекс дегрануляции (ИД) снижался на 12,5% ($p < 0,05$). При этом количество сильно дегранулированных клеток (II и III степени дегрануляции) уменьшалось на 23% ($p < 0,05$). Предварительная инкубация ТК с пептидом PGPR оказывала более слабое действие по сравнению с PGP – общее количество дегранулированных клеток не менялось, но изменялось соотношение числа клеток с разной степенью дегрануляции. Количество слабо дегранулированных ТК увеличилось на 27,5 % ($p < 0,05$) за счёт уменьшения количества ТК с умеренной степенью дегрануляции. Пептид PGPL практически не влиял на дегрануляцию ТК. Таким образом, модификация PGP по С-концу значительно ослабляет стабилизирующее действие этого пептида на ТК.

Автор выражает признательность д.б.н. Б.А. Умаровой, к.б.н. Г.Н. Копыловой, д.б.н. Г.Е. Самониной за помощь в подготовке тезисов.

Особенности гормонального статуса и типов телосложения у коренных жителей Новгородской области

Вальц Е.В. (Москва, katja-waltz@yandex.ru)

На современном этапе развития антропологической науки большое внимание уделяется изучению комплексных морфофизиологических признаков человека. Среди систем, играющих важную роль в формировании конституции, выделяется эндокринная, как важнейший фактор образования того или иного типа конституции. Из комплекса гормонов, регулирующих рост и созревание организма, определенного внимания заслуживают половые гормоны, многогранное действие которых распространяется на биохимические, а через них и на физиологические функции организма.

Основной целью данной работы было изучение количественной изменчивости уровней секреции основных половых гормонов – тестостерона (Т), эстрадиола (Э) и типов телосложения у современного сельского населения Валдайского, Волотовского и Парфинского районов Новгородской области, в возрастном интервале от 20 до 50 лет, общей численностью 190 человек (105 мужчин и 85 женщин). Определение уровней секреции половых гормонов проводилось с использованием RIA Immunotech. Для определения содержания гормонов кровь бралась из локтевой вены в утренние часы (у женщин с регулярным циклом на 7–8-й день фолликулярной фазы).

В ходе исследования гормонального статуса у мужского населения, был выявлен низкий уровень секреции Т ($5,48 \pm 1,78$ нг/мл) и максимальный уровень секреции Э ($33,21 \pm 8,33$ пг/мл). Среднее значение уровня секреции Э у женщин составляет $115,02 \pm 51,79$ пг/мл, а уровень секреции Т – $0,53 \pm 0,18$ нг/мл. У коренных жителей Новгородской области встречаются все типы телосложения. В целом, современное мужское население характеризуется грудным соматотипом, женское коренное население отличается мезосомным типом телосложения. В ходе исследования были выявлены устойчивые связи основных типов телосложения с уровнями секреции половых гормонов. Мускульный тип телосложения характеризуется максимальной андроморфией с наиболее высоким уровнем секреции Т и средним уровнем секреции Э. Напротив, грудной соматотип обладает минимальной андроморфией, со свойственным ему

достоверно значимым пониженным уровнем Т и умеренным уровнем Э. Повышенный уровень секреции Т и самый высокий уровень Э характеризуют брюшной соматотип. В женской выборке мезосомный тип телосложения характеризуется самым высоким уровнем секреции Э и средним уровнем секреции Т. У лептосомного соматотипа отмечены достоверно низкие показатели Э и Т. Мегалосомный тип телосложения характеризуется средним значением секреции Э и самым высоким уровнем секреции Т. У женщин выявлен четкий градиент распределения обоих половых гормонов по эндомезоморфному компоненту телосложения, что находит свое подтверждение и в других исследованиях. При этом у обоих полов коренного населения Новгородской области отмечен сравнительно низкий уровень секреции Э и Т по эктоморфной координате телосложения. В результате проведенного исследования гормонального статуса коренного населения Новгородской области обнаруживаются четкие связи показателей секреции половых гормонов с основными вариантами морфологической конституции, подтверждающие влияние половых гормонов на развитие основных компонентов тела и пропорций, как важнейших факторов формирования соматического габитуса индивидуума.

Изменение variability сердечного ритма дошкольников в динамике учебного года в условиях раннего систематического обучения

Вереина А.Г. (Астрахань, nicondr@mail.ru)

Повышение уровня требований к багажу знаний и практических умений у детей, готовящихся стать первоклассниками, приводит к интенсификации нагрузок в воспитательных программах детских дошкольных образовательных учреждений. Данные о влиянии систематических интеллектуальных и статических нагрузок в динамике раннего обучения детей периода первого детства противоречивы. Актуальным является определение «физиологической цены» раннего развивающего обучения у мальчиков и девочек-дошкольников различных возрастных групп, а также определение периодов максимального напряжения и перенапряжения адаптационных систем организма в динамике учебного года, что в совокупности и явилось целью настоящего исследования. Система кровообращения может рассматриваться как чувствительный индикатор адаптационных реакций организма, а variability сердечного ритма (ВСР) хорошо отражает степень напряжения регуляторных систем, обусловленную возникающей в ответ на любое стрессорное воздействие активацией системы гипоталамуса и надпочечники и реакцией симпатoadrenalовой системы. Исследование проводилось в дошкольном образовательном учреждении № 60 г.Астрахани среди детей старших и средних групп. Произвели четыре серии измерений в сентябре, декабре, марте, мае. Регистрировали ЭКГ-сигнал во втором отведении. Исследования были проведены с помощью специального компьютерного комплекса "Варикард", который обеспечивал регистрацию и автоматический анализ ЭКГ, а также анализ variability сердечного ритма. Продолжительность записи 5 минут. К исследованию variability сердечного ритма приступали через 1-2 часа после завтрака, в тихой комнате. Запись ЭКГ производилась в положении лежа на спине. Обстановка во время исследования была спокойной. Количество учащихся – 63 ребенка, среди них 31 мальчик и 32 девочки. Спектральные показатели отражают особенности сердечного ритма испытуемых. Известно, что колебания (HF) обусловлены изменениями тонуса блуждающего нерва при дыхании. Волновые колебания в низкочастотном диапазоне (LF) связаны с барорефлекторной модуляцией симпатических влияний на сердце. Механизм очень низкочастотных колебаний (VLF) окончательно не установлен формирование сверхнизкочастотных волн обусловлено влиянием надсегментарных отделов вегетативной нервной системы (активностью гипоталамических центров), эндокринных или гуморальных факторов на синусно-предсердный узел сердца. Анализ

вариабельности сердечного ритма у мальчиков показал, что суммарная мощность спектра очень низкочастотного компонента с сентября по декабрь уменьшается, а в мае увеличивается. В декабре значительно уменьшаются показатели суммарной мощности ультранизкочастотного компонента и период максимального спектра высокочастотного компонента ВСП. Это свидетельствует о том, что у мальчиков активность симпатического отдела вегетативной нервной системы снижается в декабре месяце. Достоверных различий в показателях ВСП у девочек в сентябре и декабре не наблюдается. Таким образом, можно предположить, что «физиологическая цена» адаптации мальчиков-дошкольников к условиям раннего систематического обучения высока и необходимо разрабатывать систему мероприятий, направленную как на корректировку нагрузки, так и на повышение адаптационного потенциала мальчиков - дошкольников

Влияние первичного насыщения на сердечную деятельность гренландских тюленей (*Pagophilus groenlandicus*)

Гладких А.С. (Мурманск, gladkikh@list.ru)

Увеличение энергетических затрат после питания, вызванное процессами пищеварения и ассимиляции пищи, может являться существенной частью ежедневного бюджета энергии животных. Чаще всего данный эффект исследуют при помощи переспирометрии, хотя данная методика имеет ряд недостатков. В качестве более адекватного метода для определения обмена энергии предлагается использовать наблюдения за сердечной деятельностью. Но, за исключением исследований людей, ответу сердечной нормы на пищеварение было уделено мало внимания среди эндотермных. Только в одном из известных нам исследований на морских млекопитающих сообщалось, что увеличение обмена энергии после кормления сопровождалось отсутствием изменений в деятельности сердца.

Объектами исследования были четыре гренландских тюленя разного возраста. Регистрацию сердечной деятельности производили при помощи электрокардиографа ЭК1Т-05-АСК до- и после кормления в специальном боксе, где находилось животное. Кормление производили до того момента, пока животное не отказывалось от приема пищи.

В результате исследований установлено, что после насыщения снижается среднее значение R-R интервалов в $1,35 \pm 0,05$ раза (как следствие увеличение частоты сердечных сокращений). Показатели SDNN (стандартное отклонение нормальных кардиоинтервалов) и RMSSD (квадратный корень из суммы разностей последовательного ряда кардиоинтервалов) снизились в $1,47 \pm 0,11$ и $1,52 \pm 0,09$ раза, соответственно. Значение pNN50 (число пар кардиоинтервалов с разностью более 50 мс в процентах к общему числу кардиоинтервалов в массиве) также уменьшился. Таким образом, в момент первичного насыщения происходит стабилизация ритма, уменьшение разброса длительностей кардиоинтервалов, увеличение количества однотипных по длительности интервалов.

Изменения вегетативного баланса в виде активации симпатического звена рассматриваются как неспецифический компонент адаптационной реакции в ответ на различные стрессорные воздействия. После насыщения животного, в отличие от голодного состояния, увеличена активность механизмов симпатической регуляции. Наше исследование свидетельствует, что кормление оказывает существенное влияние на сердечно-сосудистую систему лаастоногих. Это необходимо учитывать при оценке бюджета энергии животных методом электрокардиографии.

Влияние синтетических регуляторов оксоглутаратдегидрогеназы на поведение и на активность фермента в мозге крыс в норме и при острой алкоголизации

Грозная А.А. (Москва, agroz@mail.ru), Ефимова Е.В., Буник В.И., Ловать М.Л.

Нарушение функции 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса (ОГДК) связано с накоплением глутамата, выработкой активных форм кислорода (АФК) и нейродегенерацией. В данной работе мы исследовали физиологическое действие модулятора активности ОГДК сукцинилфосфоната (СФ) на крысах, подвергшихся действию больших доз этанола, сильного индуктора нейродегенерации.

Работа проводилась на 72 белых крысах-самцах. Животных подвергали этаноловому наркозу введением 25% раствора этанола внутривенно из расчета 4,5 мг этанола на кг. Препарат СФ животным вводили интраназально за 50 минут до наркоза в объеме 40 мкл в дозах 5 и 25 мг/кг. Контрольным животным вводили физиологический раствор в объеме, эквивалентном опыту. Острые эффекты исследовали через 4 часа после пробуждения от наркоза, отставленные – через сутки. Поведенческие параметры измеряли в тестах «норковая камера», «закрытый крестообразный лабиринт» (ЗКЛ), «светло-темная камера» (СТК). Мышечную силу измеряли электронным динамометром.

Мы показали, что СФ не влиял на параметры двигательной активности крыс, но их исследовательская активность возрастала как в первые, так и на вторые сутки эксперимента. Так, по сравнению с контрольными животными увеличивалось количество заглядываний в нижние норки в тесте «норковая камера» (170%, $P < 0,05$ при 5 мг/кг) и количество переходов (138%, $P = 0,06$ при 25 мг/кг) и стоек (141%, $P < 0,05$ при 25 мг/кг) в тесте ЗКЛ. В то же время, на вторые сутки СФ в дозе 25 мг/кг обладал анксиогенным действием, снижая время на свету (32%, $P = 0,08$) и латентный период захода в темный отсек в тесте СТК (67%, $P = 0,07$) по сравнению с контролем.

При совместном действии СФ и этанола СФ дозозависимо увеличивал продолжительность наркотического сна (157% и 240 % к показателю этанол-обработанных животных для доз 5 и 25 мг/кг СФ, соответственно). Совместное применение усиливало и угнетающее действие этанола на исследовательскую и двигательную активность через 4 часа после пробуждения животных. Так, по отношению к показателям этанол-обработанных животных, совместное применение снижало время движения (48%, $P = 0,03$), длину пройденного пути (58%, $P = 0,06$), выходы в центр (29%, $P = 0,005$), количество стоек (20%, $P = 0,01$) и заглядываний в нижние норки (29%, $P = 0,006$). На следующие сутки после пробуждения у животных, подвергшихся действию этанола, наблюдали повышенную по сравнению с контролем исследовательскую активность: увеличивалось количество стоек (154%, $P < 0,05$) и полных обходов (164%, $P = 0,06$) в тесте ЗКЛ. Одновременно в тесте СТК возрастала тревожность: уменьшалось время на свету (28%, $P = 0,07$) и латентный период захода в темный отсек (60%, $P < 0,05$). Наблюдали и достоверное понижение мышечной силы. Все эти показатели нормализовались при совместном действии этанола и СФ.

Биохимический анализ выявил увеличение активности ОГДК в коре мозга животных, подвергавшихся воздействию СФ или этанола. Совместное действие СФ и этанола нормализовало этот показатель аналогично поведенческим и физиологическим показателям, рассмотренным выше.

Таким образом, при раздельном введении СФ и этанол действовали на ряд параметров поведения и активность ОГДК однонаправлено. Однако введение СФ за 50 мин до этанолового наркоза обладало протекторным действием, нормализуя поведенческие, физиологические и биохимические показатели.

Влияние дексаметазона на экспрессию и функциональную активность рецепторов ангиотензина-II и вазопрессина в аорте крысы

Давыдова А.Г. (Москва, lexx84@list.ru)

Главная роль в реализации эффекта глюкокортикоидов принадлежит цитозольным глюкокортикоидным рецепторам (ГРц). В димеризованном состоянии ГРц проникают в ядро клетки и иницируют или подавляют транскрипцию генов многих рецепторных белков и ферментов, участвующих в регуляции сосудистого тонуса. Целью настоящего исследования было изучение роли ГРц в регуляции экспрессии и функциональной активности рецепторов ангиотензина-II (АТ-II) и вазопрессина (ВП) в кровеносных сосудах.

Эксперименты проводились на препаратах аорты, взятых от крыс Wistar весом 220-250 г. Части грудного отдела аорты инкубировали в питательной среде DMEM с дексаметазоном (10^{-6} М) и без него при 37°C в атмосфере с 3,5% CO₂ в течение 24 часов. Функциональную активность рецепторов в контрольных и инкубированных с дексаметазоном сосудах определяли, измеряя силу сокращения изолированных колец аорты в изометрическом режиме в ответ на воздействие АТ-II, ВП, серотонина, норадреналина (НА), эндотелина-1 (ЭТ-1). Уровень экспрессии рецепторов определяли методом обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции. При другом подходе проводили искусственную десенситизацию ГРц *in vivo* путем введения крысам в течение 6 дней больших доз дексаметазона (3 мг/кг). После этого выделяли грудной отдел аорты и определяли, к каким изменениям в функциональной активности и экспрессии рецепторов вазоконстрикторных гормонов в аорте приводит дефицит ГРц в организме.

Показано, что сократительная реакция на ВП, АТ-II, НА, ЭТ-1 и серотонин у сосудов после инкубации в течение суток в питательной среде DMEM без дексаметазона не изменялась по сравнению со свежесыведенными сосудами. Функциональная активность сохранялась не только в гладкомышечных, но и в эндотелиальных клетках, что подтверждалось наличием карбахол-индуцированного расслабления сосудов. На сосудах, инкубированных с дексаметазоном увеличивается сократительная реакция сосудов на АТ-II с 16,0 до 31,1 мг ($p < 0,05$) и на ВП с 9,2 до 31,6 мг ($p < 0,004$) по сравнению с сосудами, инкубированными в среде DMEM без дексаметазона. Реакция изолированных колец аорты на НА, карбахол, серотонин и ЭТ-1 не изменялась по сравнению с контролем. Уровень мРНК, кодирующих рецепторы АТ-II, под воздействием активатора ГРц дексаметазона возрастал в 3-4 раза.

Ранее было выявлено, что десенситизация ГРц *in vivo*, вызванная продолжительным внутривенным введением крысам дексаметазона приводит к снижению вазопрессорной реакции на АТ-II и ВП. В настоящей работе показано, что в этих условиях происходит 2-кратное падение уровня мРНК АТ1А-рецепторов в аорте. При инкубации сосудов *in vitro* ГРц активируются, что увеличивает в 8 раз экспрессию АТ1А-рецепторов.

Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что ГРц регулируют функциональную активность рецепторов АТ-II и ВП в аорте крысы. В отношении рецепторов АТ-II установлено, что ГРц контролируют уровень их экспрессии.

Работа поддержана грантом РФФИ (№07-04-014443).

Мелатонин и ретиноевая кислота как индукторы апоптоза стволовых клеток планарий

Ермаков А.М., Ермакова О.Н. (Пушино, ao_ermakovy@rambler.ru)

Пресноводные плоские черви – планарии (Platyhelminthes, Turbellaria, Tricladida) известны своей уникальной способностью к восстановлению утраченных частей тела путем регенерации. Регенерация планарий осуществляется за счет пролиферации и дифференцировки стволовых клеток – необластов. Эти животные представляют

идеальную биологическую модель для проведения фундаментальных исследований в области регенерации, морфогенеза, биологии стволовых клеток. Проллиферация необластов контролируется различными эндогенными веществами – морфогенами, к числу которых относятся ретиноевая кислота и мелатонин. Эти вещества при экзогенном воздействии способны ингибировать регенерацию головной части планарий и не оказывать влияния на регенерацию хвоста. Регенерация в данном случае ингибируется посредством подавления пролиферативной активности необластов на уровне перехода клеток от S к G₂/M фазе клеточного цикла. Ретиноевая кислота и мелатонин у высших животных в высоких концентрациях могут индуцировать апоптоз пролиферирующих клеток. Возможно у планарий под воздействием этих веществ, помимо вышеописанного механизма торможения пролиферации необластов, функционирует механизм избирательной гибели пролиферирующих стволовых клеток.

Нами была исследована способность мелатонина и ретиноевой кислоты к индукции апоптоза необластов во время регенерации головного и хвостового конца тела планарий. Работу проводили на бесполом лабораторном расе двух видов планарий – *Girardia tigrina* и *Schmidtea mediterranea*. Регенерацию животных запускали ампутацией головного или хвостового конца тела. Количество апоптотических необластов определяли в суспензии клеток постбластемы (ткани – непосредственно примыкающей к бластеме) методом диффузии ДНК в агарозном геле. Для этого ткань постбластемы суточных регенерантов суспендировали и заливали в агарозный гель на предметное стекло. Далее производили щелочной лизис клеток с последующей нейтрализацией и преципитацией ядерной ДНК. Полученный микропрепарат окрашивали флуоресцентным красителем SYBR Green и просматривали под микроскопом. Подсчитывали количество апоптотических и нормальных клеток и определяли долю апоптозов на общее число клеток. Ретиноевая кислота в растворе диметилсульфоксида и мелатонин в растворе этанола добавляли непосредственно в стаканы с водой, в которых находились предварительно декапитированные животные.

Исследование показало, что мелатонин в концентрации 10⁻⁵М и 10⁻⁶М у регенерирующих планарий достоверно приводил к увеличению доли апоптотических необластов в головной постбластеме соответственно в 2-1,5 раза, тогда как доля таких клеток в хвостовой постбластеме не отличалась от контрольных значений. К подобным эффектам приводило добавление ретиноевой кислоты в концентрации 10⁻⁷М. В этом случае доля апоптотических клеток в головной постбластеме достоверно увеличивалась в 2 раза по сравнению с контрольными значениями, хотя в хвостовой постбластеме ретиноевая кислота не приводила к индукции апоптоза стволовых клеток планарий. Таким образом, мелатонин и ретиноевая кислота в физиологически высоких концентрациях способны к дисто-проксимальному эффекту индукции гибели пролиферирующих стволовых клеток планарий во время регенерации.

Влияние мелатонина и ретиноевой кислоты на экспрессию генов в теле планарий *Ермакова О.Н., Ермаков А.М., Евдокимовский Э.В. (Пушино, ao_ermakovy@rambler.ru)*

Мелатонин (Me) и ретиноевая кислота (РК) являются морфогенами пресноводных плоских червей планарий (Platyhelminthes, Turbellaria, Tricladida), которые подавляют у этих животных процесс регенерации. Ингибирующее действие данных веществ на регенерацию планарий проявляется путем подавления пролиферации тотипотентных стволовых клеток – необластов. У высших животных антипролиферативная активность Me и РК опосредуется изменением экспрессии генов рецепторов, взаимодействующих с данными веществами, генов контролирующего клеточный цикл, гомеобоксных генов. Вероятно, подобным эффектом обладает воздействие данных морфогенов на пролиферирующие областы планарий. В связи с этим в настоящей работе исследовалось изменение экспрессии вышеперечисленных типов генов под

воздействием экзогенно добавленных РК и Ме у интактных и регенерирующих планарий.

Исследование проводили на лабораторной бесполой расе планарий *Schmidtea mediterranea*. С помощью поиска *in silico* в геноме *S. mediterranea* были найдены ортологи генов: Нох А3, циклин-зависимые киназы CDK 2 и CDK 6. Также был обнаружен ортолог рецептора ретиноевой кислоты RXR. Изменение уровня экспрессии вышеперечисленных генов в теле интактных и регенерирующих планарий под воздействием РК и Ме определялось методом ПЦР в реальном времени. В качестве house-keeping гена был использован ген фактора элонгации EF-1 α , относительно которого нормализовалась экспрессия всех исследованных генов. Регенерацию планарий запускали ампутацией головного или хвостового отдела. РК в растворе диметилсульфоксида и Ме в растворе этанола добавляли непосредственно в среду, где содержались интактные или регенерирующие животные. Также применяли метод кормления планарий искусственной пищей, содержащей РК.

Исследование изменения уровня экспрессии в теле интактных планарий при воздействии Ме в концентрации 10^{-5} М показало, что через сутки инкубации он достоверно снижает уровень экспрессии только CDK 6 в 2,3 раза. Суточная инкубация планарий в растворе РК (10^{-6} М) достоверно приводила к уменьшению (в 1,5 раза) транскрипции генов CDK 6 и Нох А3. Двухсуточная инкубация интактных планарий в растворе РК с концентрацией 10^{-7} М приводила лишь к незначительному снижению экспрессии генов CDK 6, RXR и Нох А3. Изучение экспрессии исследуемых генов в теле планарий на 1, 2 и 3 день после кормления РК показало, что через день после кормления у животных достоверно понижался уровень транскрипции гена CDK 6. На второй день после кормления достоверно уменьшилась экспрессия CDK 6 (3,3 раза), Нох А3 (1,3 раза) и RXR (1,5 раза). К третьему дню процесса пищеварения у планарий эффект ингибирования транскрипции генов CDK 6 и Нох А3 уменьшился, тогда как уровень ингибирования экспрессии гена RXR остался прежним. Суточная инкубация регенерирующих планарий в растворах РК (10^{-7} М) и Ме (10^{-5} М) не влияла на экспрессию исследуемых генов.

Результаты исследования показывают, что оба исследуемых морфогена приводят к изменению экспрессии генов у интактных планарий, причем Ме способен проникать через покровы интактных животных и вызывать эффект, тогда как воздействие РК эффективно в случае проникновения в тело планарий с пищей. Отсутствие эффекта воздействия Ме и РК на экспрессию генов в регенерирующих животных, возможно, обусловлено различными механизмами регуляции пролиферации необластов у интактных и регенерирующих планарий.

Гетерогенность терапевтического эффекта препарата «Семакс» в экспериментах на предварительно алкоголизованных белых беспородных крысах

Ефимова Е.В. (Москва, e.v.efimova@mail.ru), Грозная А.А.

Одной из причин низкой эффективности терапии алкогольной зависимости может являться неоднородность ее патологических проявлений. На основании ряда различающихся признаков формирования и проявления алкоголизма была предложена классификация, разделяющая пациентов на два типа, позднее сходная дихотомия была показана и для животных. Предположительно, дифференцированный подход, учитывающий тип зависимости может повысить эффективность существующих схем, а также способствовать поиску новых методов терапии.

Целью настоящей работы являлось исследование действия ноотропного пептида «Семакс» на хронически алкоголизованных крыс с учетом индивидуальных особенностей их поведения. Работа была выполнена на 80 самцах белых беспородных крыс, предварительно алкоголизованных в течение 4,5 месяцев 15% этанолом в

условиях свободного выбора. Из них для работы были отобраны 40 крыс со среднесуточным потреблением более 5,6 мл. «Семакс» вводился на фоне алкогольной депривации интраназально в течение 10 дней в двух дозах – 50 и 200 мкг/кг в день. Оценивалось поведение в тесте «Норковая камера», «Крестообразный приподнятый лабиринт», как исходно, так и после введения препарата. Далее измерялось потребление этанола в индивидуальных камерах.

Полученные результаты показали, что на фоне алкогольной депривации под действием «Семакс» происходит повышение активности крыс (увеличение длины пройденного пути до 123% и 139% ($p < 0,05$) к алкоголизированному контролю для доз 50 мкг/кг и 200 мкг/кг соответственно). При этом дозировка 50 мкг/кг вызывала снижение тревожности (по показателю времени движения в центральной зоне в норковой камере, 145% к интактному контролю, ($p < 0,05$)). В то же время, доза 200 мкг/кг вызывала уменьшение активности в центре при увеличенной общей активности, что свидетельствует о компонентах гипервозбудимости и тревожности. Кроме того, «Семакс» в дозе 200 мкг/кг значительно увеличивал потребление алкоголя (до 217% к интактному контролю, $p < 0,05$), чего при его введении в меньшей дозе не наблюдалось.

С целью выявления причин гетерогенности результатов был проведен индивидуальный статистический анализ поведения крыс. Он показал, что у группы «Семакс» в дозе 200 мкг/кг имелась прямая корреляция между уровнем потребления этанола и показателями двигательной активности, такими как длина пройденного пути ($p = 0,013$), средняя скорость ($p = 0,013$), время и количество актов движения ($p = 0,011$), число стоек ($p = 0,05$). У группы, получавшей «Семакс» в дозе 50 мкг/кг такой закономерности выявлено не было.

На этом основании можно предположить, что «Семакс» в высокой дозе (200 мкг/кг) оказывает активирующее и анксиогенное действие, что провоцирует потребление этанола у наиболее возбудимых животных. В умеренной дозе (50 мкг/кг) «Семакс» не вызывает гиперактивности и при этом купирует поведенческие признаки абстиненции.

Таким образом, показано положительное действие ноотропа «Семакс» на восстановление поведенческих изменений, вызываемых алкогольной абстиненцией. Эффективность препарата была наибольшей при введении его в невысокой терапевтической дозе (применяемой в клинике для улучшения мнестических способностей) и использовании его у животных с менее активным типом поведения.

Влияние природного полимера хитозана на активность перекисного окисления липидов при экспериментальной форме лучевой болезни

Ешкова О.Ю. (Нижний Новгород, oksana2027@mail.ru)

Центральное место в жизнеобеспечении организма принадлежит биологическим мембранам. Ведущую роль в повреждении мембран играют процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ). Лимитирующим фактором реакции перекисаации является мощная система антиоксидантной защиты организма. Наиболее ярко процессы ПОЛ протекают при воздействии на организм ионизирующей радиации. Различные исследования показали, что экзогенное усиление антиоксидантных систем организма позволяет уменьшить перекисаацию, повысить функциональные и репаративные возможности различных органов и систем. Поэтому поиск эффективных антиоксидантов остается актуальной проблемой современной науки. Наиболее интересны антирадикальные препараты природного происхождения. К ним относится и хитозан с разной молекулярной массой.

Эксперимент проводился на белых нелинейных крысах самцах массой 230-260 грамм. Изучали антиоксидантные свойства олигохитозана с молекулярной массой 4000 Да при терапии костно-мозговой формы лучевой болезни. Животные были разделены на 3 группы по 5 крыс в каждой: интактные (условная норма, в дальнейшем не

подвергались никаким воздействиям), контроль на облучение (подвергались только облучению), опытная группа. Всех животных, кроме интактных, подвергали однократному общему гамма облучению в дозе 3 Гр. Через 2 часа после облучения крыс опытной группы подвергали терапии олигохитозаном в течении 7 суток. Препарат вводили *per os* с помощью зонда в объеме 1 мл на животное 1 раз в сутки. На 1 и 14 сутки после окончания терапии у животных всех групп брали кровь из подъязычной вены и определяли в плазме крови содержание продуктов ПОЛ – триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ). За относительную группу принимали показатели интактных животных.

В ходе эксперимента наблюдалось снижение на 14 сутки ТК и ОШ в опытной группе ($p \leq 0,05$). ОШ – конечный продукт ПОЛ, поэтому можно сказать, что применение олигохитозана в опытной группе привело к снижению интенсивности процессов перекисидации. В первые сутки статистически значимых изменений не отмечено.

Таким образом, проведенное нами исследование свидетельствует об антиоксидантном действии олигохитозана, при его пероральном введении, в условиях экспериментальной лучевой болезни, что открывает новые перспективы в использовании его в практической медицине.

Изучение локомоционной активности клеток крови позвоночных животных при разной температуре инкубации клеток *in vitro*

Забиняков Н.А. (Белгород, serious2x@rambler.ru), Во В.Т., До Х.К.

Целью работы было изучение локомоционной активности смешанной популяции гемоцитов позвоночных животных у представителей классов: птицы (курица домашняя – *Gallus domesticus*), земноводные (лягушка прудовая – *Rana ridibunda*) и рыбы (сазан – *Cyprinus carpio*) при изменении температуры инкубации клеток в опытах *in vitro*. В работе использовали периферическую кровь. Спонтанную локомоционную активность эритроцитов и лейкоцитов оценивали по площади миграции клеток под агарозой.

В результате проведенных исследований установлено, что у представителей всех изученных классов животных с увеличением температуры от 8°C до 22°C площадь спонтанной миграции смешанной популяции гемоцитов увеличивается, при этом у земноводных и птиц наблюдается достоверное изменение этого показателя: на 11% и 21% соответственно.

При повышении температуры до 37°C по сравнению с температурой 22°C изучаемый показатель снижается у рыб и у лягушек на 13% и 20%. У птиц повышается на 8%. При увеличении температуры инкубации гемоцитов до 40°C наблюдается снижение площади спонтанной миграции: у рыб по сравнению с температурами 8°C, 22°C и 37°C на 43%, 48% и 40%, у земноводных по сравнению с температурами 8°C и 22°C на 8% и 12% соответственно. У птиц изучаемый показатель при температуре 40°C возрастает на 52% и 26% по сравнению с температурами 8°C и 22°C. Таким образом, у холоднокровных животных при повышении температуры инкубации клеток крови свыше 22°C миграционная активность и площадь спонтанной миграции снижается, у птиц – повышается.

При сравнении показателей локомоционной активности гемоцитов животных разных классов установлено, что самые высокие значения (при температурах инкубации клеток 8°C, 22°C и 37°C) характерны для рыб, самые низкие – для птиц, при температуре 40°C – наоборот. Наиболее высокие значения площади распространения гемоцитов у птиц при температуре 40°C вероятнее всего обусловлены высокой температурой тела этой группы животных.

Миграционная активность клеток зависит от температуры инкубации гемоцитов. Разнонаправленная динамика изменений спонтанных локомоций у представителей теплокровных и холоднокровных животных может быть обусловлена неодинаковыми

экологическими условиями обитания, эволюционным следствием которых являются разные механизмы температурной адаптации на клеточном уровне. Выявленные закономерности соответствуют особенностям терморегуляционных реакций представителей обследованных классов.

Влияние N-концевого фрагмента ноцицептина на поведение детенышей лабораторных крыс при однократном введении

Иванова Е.А. (Москва, katty.kilgor@gmail.com), Малышев А.В.

Ноцицептин (орфанин FQ) – пептид из 17 аминокислот, являющийся эндогенным лигандом нетипичного опиоидного рецептора OP_4 (иначе ORL_1). Ноцицептин и его аналоги действуют на периферии так же, как опиоидные пептиды, вызывая пресинаптическое торможение окончаний вегетативных нейронов. В то же время в центральной нервной системе эффекты ноцицептина могут быть как аналогичны, так и противоположны эффектам опиоидов. В частности, опиоиды снижают болевую чувствительность, а пептиды ряда ноцицептина усиливают ее. При введении ноцицептина в желудочки мозга у грызунов наблюдаются разнообразные изменения поведения: снижение двигательной активности, ухудшение запоминания, увеличение потребления пищи, снижение тревожности, причем эффект может значительно изменяться в зависимости от дозы пептида.

В данной работе впервые исследовалось действие N-концевого фрагмента ноцицептина Phe-Gly-Gly-Phe-NH₂ на поведение экспериментальных животных при внутрибрюшинном введении. Пептид инъецировали за 20 мин перед опытом (острое введение) в дозе 5 мг/кг взрослеющим детенышам беспородных белых крыс (возраст 3-7 недель). Показано, что использованная доза препарата не влияет на болевой порог (тест «отдергивание хвоста»; возраст 43 дня) и общую двигательную активность животных. При этом тетрапептид изменяет соотношение исследовательского и оборонительного поведения: у крыс опытной группы зарегистрировано достоверно большее число выходов в центр арены «открытого поля», чем в контроле. Введение тетрапептида улучшает координацию движений и снижает утомляемость: опытные крысы значимо дольше удерживались на вращающемся стержне, чем контрольные. Выявленные в тестах «открытое поле» и «рота-род» различия относительно слабо проявлялись у животных в возрасте 28 дней, но существенно усилились при исследовании в возрасте 42 дней. Данный факт может свидетельствовать о постепенном увеличении числа ORL_1 -рецепторов и/или созревании соответствующих синапсов по мере взросления крыс.

Кроме того, у животных вырабатывали условную реакцию пассивного избегания (возраст 49 дней). При проверке сохранения навыка через 72 часа после обучения детеныши опытной группы проводили меньше времени в светлом отсеке, чем контроль. Следовательно, тетрапептид затруднял обучение с отрицательным подкреплением.

В целом можно заключить, что исследованное нами соединение при системном введении вызывает некоторые поведенческие эффекты, сходные с действием природной молекулы ноцицептина. Это, в свою очередь, подтверждает существующее представление о том, что именно N-концевой тетрапептид Phe-Gly-Gly-Phe является минимальным действующим фрагментом ноцицептина, активирующим ORL_1 -рецептор.

Серотонинергическая система в раннем развитии костистых рыб

Ивашкин Е.Г. (Москва, veliger@ya.ru)

Участие некоторых нейромедиаторов в донервной регуляции морфогенеза известно с 40-ых годов прошлого века. К настоящему времени методами биохимии, иммунохимии и флуоресцентной сканирующей микроскопии было показано, что серотонин присутствует начиная со стадии яйцеклетки и далее в дроблении и

гастрюляции в зародышах всех исследованных животных различной систематической принадлежности. В ряде работ было показано, что серотонинергическая система участвует в регуляции деления клеток, межклеточных взаимодействий, поляризации клеток, клеточных пластов и эмбриона в целом. Однако подобные исследования, посвященные костистым рыбам, практически отсутствуют. В единственной цитируемой в современной литературе работе присутствие серотонина в развивающейся икре костистой рыбы было показано непрямым методом. А фармакологические, морфологические и молекулярно-биологические данные имеются лишь для стадий с развитой нервной системой.

Мы исследовали развивающуюся икру двух видов костистых рыб, являющихся модельными объектами молекулярной биологии и биологии развития: данио (*Brachydanio rario*) и вьюна (*Misgurnus fossilis*). Методами HPLC и иммуноцитохимии мы показали наличие серотонина в зародышах на последовательных стадиях дробления. Наибольшую концентрацию серотонина мы наблюдали в бластодерме. Кроме того, яркость окрашивания существенно усиливалась после инкубации в предшественнике серотонина (5-гидрокситриптофан, 10^{-3} М, 20 мин). Иммуноокрашивание коммерческими антителами к человеческому 5HT_{1a} рецептору выявило на электрофоретическом геле полосу в районе 44 кДа, что соответствует описанному для данио белку рецептора 5HT_{1a}. Сканирование тотальных препаратов, окрашенных этими антителами, на конфокальном микроскопе показало наличие неравномерно распределённого точечного окрашивания на плазматической мембране бластомеров на начальных стадиях дробления. Инкубация зародышей в агонистах и антагонистах серотониновых рецепторов приводила к специфическим нарушениям развития на разных стадиях: нарушению целостности бластодермы на стадии бластулы, мальформациям осевых органов на поздних стадиях развития, изменению темпов развития. Кроме того, нами было обнаружено различие эффектов некоторых веществ у развивающихся эмбрионов данио и вьюна.

Таким образом, нами напрямую было показано наличие серотонинергической системы в донервном развитии, а также получены данные о её участии в регуляции различных морфогенетических процессов у костистых рыб.

Автор выражает признательность д.б.н. Е.Е. Воронежской за помощь в подготовке тезисов.

Электрофизиологические характеристики дыхательной мускулатуры животных в процессе реадaptации после длительного пребывания в условиях высокогорья

Ильичев В.П. (Бишкек, Кыргызстан, ivp.1980@mail.ru)

Ранее нами были рассмотрены особенности электрофизиологических характеристик дыхательных мышц у крыс в низкогорье и в различные сроки пребывания в условиях высокогорья. Установлена закономерность включения в акт дыхания диафрагмы и межреберной мускулатуры краниальных и каудальных отделов грудной клетки. Проведен спектральный анализ ЭМГ дыхательной мускулатуры крысы в условиях барокамерных нагрузок. До настоящего времени в современной литературе отсутствуют сведения об электрофизиологических характеристиках дыхательных мышц животных и их соотношении при барокамерных нагрузках в процессе реадaptации после длительного пребывания в условиях высокогорья. Целью нашего исследования явилось выявление особенностей биоэлектрических характеристик дыхательных мышц и динамики гипоксической устойчивости у лабораторных животных в процессе реадaptации после длительного пребывания в условиях высокогорья. Были поставлены следующие задачи: 1) изучить динамику и провести сравнение электрофизиологических характеристик мышц 2-го, 7-го межреберий и диафрагмы крыс в покое и при остром воздействии гипобарической гипоксии на 2-3, 14-15 и 28-29 сутки реадaptации; 2)

соотнести биоэлектрические характеристики дыхательных мышц с показателями гипоксической устойчивости.

Работа выполнена на белых лабораторных крысах-самцах (массой 180-200 г) после спуска их с высоты 3200 м над уровнем моря (перевал Туя-Ашу, центральный Тянь-Шань) в условия низкогорья (высота 760 м над уровнем моря). В процессе решения задач исследования были поставлены следующие серии экспериментов: 1) запись и анализ ЭМГ в покое и на высотах «барокамерного» подъема с определением высотного потолка на 2-3 сутки реадaptации; 2) проведение вышеуказанных процедур на 14-15 сутки реадaptации; 3) осуществление вышеуказанных обследований на 28-29 сутки реадaptации. Гипоксическая (высотная) устойчивость определялась по началу агонального дыхания, регистрируемого с помощью электромиограммы дыхательной мускулатуры у наркотизированных крыс (уретан 1000 мг/кг) при подъеме в барокамере. У животных различных групп до определения высотной устойчивости и при барокамерном подъеме регистрировали электрическую активность дыхательной мускулатуры.

Динамика амплитудных значений, частоты следования волн и характеристик спектра мощности ЭМГ у крыс после спуска с высоты 3200 м на высоту 760 м над уровнем моря отражают сдвиги регуляции, формирующие новые режимы работы дыхательной мускулатуры. Процесс формирования новых режимов протекает на всем протяжении исследований, но наибольшие изменения наблюдаются на 14-15 сутки реадaptации, когда регистрируются биотоки поздней активности в мышцах межреберных промежутков. На 14-15 сутки реадaptационного периода отмечается наибольшее снижение гипоксической устойчивости крыс, что происходит одновременно с неадекватными сдвигами амплитуды биотоков и характеристик спектра мощности ЭМГ дыхательных мышц.

Особенности регуляции экспрессии генов метаболизма гиалуронана в почке крыс Вистар и крыс Браттлборо с наследственным дефектом синтеза вазопрессина
Кабилова Н.О. (Новосибирск, nkabilova@yandex.ru)

К настоящему времени достигнут значительный успех в исследовании молекулярных механизмов, вовлекаемых в антидиуретическое действие вазопрессина. В первую очередь это связано с клонированием V₂ рецептора вазопрессина и открытием специфических белков – аквапоринов, обеспечивающих поток воды через клеточную мембрану. Однако, несмотря на прогресс знаний в этой области, многие аспекты действия вазопрессина (ВП) остаются неясными. Среди них – участие в реализации гидроосмотического эффекта вазопрессина внеклеточного матрикса, основным компонентом которого является гиалуронан (ГН). ГН способен влиять на гидратацию и физические свойства тканей. В последние годы процесс метаболизма гиалуронана в культуре клеток и различных соединительных тканях изучен достаточно подробно, известны ключевые ферменты-участники, однако вопрос о регуляции метаболизма ГН в почке и его роли в поддержании водно-солевого гомеостаза остается дискуссионным. Наличие гликозаминогликанов и фермента катаболизма – гиалуронидазы в почке млекопитающих впервые было показано А.Г. Гинецинским. Установлено, что распределение гиалуронана в различных функциональных зонах почки гетерогенно, при этом концентрация ГН находится в обратной зависимости от осмоляльности отделяемой мочи. Однако данных о профиле экспрессии генов, кодирующих ферменты метаболизма ГН, в функциональных зонах почки и факторах регуляции их экспрессии в литературе не обнаружено. Целью исследования являлось изучение гомональной регуляции экспрессии генов, кодирующих ферменты метаболизма гиалуронана в почке крыс Вистар и крыс Браттлборо с наследственным дефектом синтеза вазопрессина.

Методом ОТ-ПЦР в работе впервые было показано, что гены, кодирующие ключевые ферменты метаболизма гиалуронана, экспрессируются во всех функциональных зонах почки как у крыс Вистар, так и у вазопрессин-дефицитных крыс Браттлборо с наследственной гипоталамической формой несахарного диабета. Установлено, что экспрессия генов гиалуронан-синтазы 2 (*HAS2*), и гиалуронидаз 1 и 2 (*Hyal1* и *Hyal2*) зависит от концентрации вазопрессина в крови и интенсивности осмотического концентрирования у крыс обеих линий, при этом ВП снижает содержание мРНК *HAS2*, и одновременно повышает содержание мРНК *Hyal1* и *Hyal2* в мозговом веществе почки, где осуществляется гидроосмотический эффект вазопрессина. Наиболее вероятным механизмом, участвующим в регуляции активности экспрессии исследуемых генов, является V_2 рецептор и аденилатциклазная система трансдукции гормонального сигнала. Установлено, что кортизол также способен влиять на содержание мРНК исследуемых генов в почке, однако эффект на экспрессию *HAS2* неоднозначен, в то время как активация экспрессии *Hyal1* и *Hyal2* проявляется во всех функциональных зонах почки. Таким образом, в работе показано, что ферменты метаболизма гиалуронана находятся под регулирующим влиянием вазопрессина и глюкокортикоидов и вовлекаются в реализацию гидроосмотического эффекта.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 07-04-00488) и грантом “Ведущие научные школы” НШ-1647.2008.4.

Особенности гомеостаза кальция в миокарде крыс в условиях физической нагрузки

Кадкин А.А. (Красноярск, kadkin@mail.ru)

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания являются одной из наиболее распространенных патологий, смертность от которых давно и прочно занимает первое место в мире. Известно, что в патогенезе миокардиодистрофий существенное значение имеют нарушения ионного гомеостаза. В частности, накопление катионов кальция в саркоплазме нарушает расслабление миофибрилл и сопровождается увеличенным поглощением Ca^{2+} митохондриями, а также активацией Ca -зависимых протеаз и фосфолипаз, что приводит либо к обратимой функциональной недостаточности миокарда, либо к некробиотическим повреждениям его структур. Целью работы стало исследование содержания катионов кальция в цитозоле, ядрах и митохондриях миокарда крыс в условиях физической нагрузки.

Работа выполнена на белых крысах-самцах массой 150-250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при температуре $23 \pm 2^\circ C$ без ограничения в воде и пище. Объектом исследования служили ядра, митохондрии и цитозоль кардиомиоцитов крыс, адаптированных к физической нагрузке. В качестве физической нагрузки использовали плавание, которое проходило в аквариумах при температуре воды $25^\circ C$. Адаптация к физической нагрузке осуществлялась в течение 21 дня (5 дней тренировки, 2 дня отдыха). Контрольная группа крыс физической нагрузке не подвергалась. Концентрацию внутриклеточного кальция определяли на спектрофлуориметре Aminco Bowman Series 2, Thermo Spectronic (USA) при $25^\circ C$ с помощью флуоресцентного зонда Fura-2/AM. Интенсивность флуоресценции определяли при длине волны возбуждения 340 нм и длине волны испускания 520 нм в течение двух минут. Концентрация катионов кальция рассчитывалась по формуле $[Ca^{2+}]_{in} = K_s (F - F_{min}) / (F_{max} - F)$, где F – интенсивность флуоресценции зонда в пробе (отн. ед.). F_{max} – флуоресценция зонда, насыщенного кальцием, измеренная после добавления в пробу 6 мкМ дигитонина. F_{min} – собственная флуоресценция зонда, свободного от кальция, измеренная после добавления 10 мМ ЭГТА. K_s – коэффициент связывания зонда с Ca^{2+} (135 нМ при $25^\circ C$).

Наши исследования показали, что только длительная физическая нагрузка небольшой интенсивности способна увеличить функциональные резервы миокарда. На это указывают следующие, полученные нами результаты. Адаптация к длительной низкоинтенсивной физической нагрузке приводит к увеличению массы миокарда. Адаптация к высокоинтенсивной и кратковременной физической нагрузке не сопровождается увеличением массы миокарда. Адаптация к длительной нагрузке низкой интенсивности не увеличивает содержание катионов кальция в цитозоле. По-видимому, это обусловлено активацией Са-АТФазы саркоплазматического ретикулула. Адаптация к физической нагрузке, стимулирующей креатинфосфатный механизм ресинтеза АТФ, обладает повреждающим эффектом, поскольку при этом виде нагрузке происходит увеличение содержания катионов кальция в миоплазме, а это подавляет расслабление мускулатуры, стимулирует фосфолипазы и протеазы, обладающие повреждающим эффектом.

Таким образом, наиболее выраженным компенсаторно-приспособительным эффектом при патологии миокарда обладает адаптация к длительной физической нагрузке низкой интенсивности. Именно она позволяет увеличить эффективность функционирования сердца, которое не сопровождается повышением содержания катионов кальция в миоплазме, что защищает мышечные клетки от действия протеаз и фосфолипаз.

Формирование энтеральной среды у животных, занимающих различное систематическое положение

Казакова Л.Х. (Москва, scolt@mail.ru)

Современные представления о процессах, происходящих в полости желудочно-кишечного тракта в основном, базируются на теории пристеночного пищеварения А.М. Уголева. В свете этой теории содержимое желудка и кишечника представляется как неупорядоченная смесь пищевой массы и пищеварительных соков, где встреча пищеварительных ферментов с субстратами происходит случайно. При изучении мембранного пищеварения до последнего времени не учитывалась роль слизистых наложений и полостной слизи. От них активно избавлялись перед началом экспериментов, то есть создавали неестественные условия протекания пищеварительного процесса. Ю.М. Гальперин, изучая на собаках пищеварение в тонком кишечнике, учел эти недостатки, и показал, что полостная слизь и слизистые наложения в тонком кишечнике играют важную роль в этих процессах. Также в этих исследованиях было обнаружено, что химус тонкого кишечника является средой, гомеостазированной по содержанию основных питательных веществ (белков, жиров, углеводов), мало изменяющейся при различных диетах. В последние 20 лет на кафедре физиологии и биохимии животных РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева изучаются процессы формирования энтеральной среды и минерального обмена на уровне желудочно-кишечного тракта. Была разработана методика фракционирования желудочного содержимого и химуса на пищевые частицы (ПЧ), плотную эндогенную фракцию (ПЭФ) и растворимую фракцию (РФ). Исследования, проведенные на птице, поли- и моногастричных млекопитающих, рыбах, показали, что содержимое желудочно-кишечного тракта этих животных представлено в основном эндогенными образованиями. Обнаружено, что катионы (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+) имеют четкую локализацию в химусе изученных животных независимо от их систематического положения и, возможно, важны для структурирования химуса. Получены косвенные данные о связывании ПЭФ токсичных катионов (Sr^{2+}).

Проведенные нами исследования на клариевых сомах *Clarias gariepinus* Burchell показали, что формирование энтеральной среды у этих рыб происходило сходно с ранее изученными видами животных – большую часть содержимого желудочно-кишечного

тракта составляют эндогенные образования (ПЭФ и РФ). Также было обнаружено, что снижение поступления Ca^{2+} из корма и окружающей воды привело к снижению выделения ПЭФ в полость желудка. Содержание элемента в ПЭФ при этом оставалось на одном уровне независимо от уровня его поступления в организм. Таким образом, можно утверждать, что кальций важен для процессов пищеварения, происходящих на уровне энтеральной среды. Недостаток поступления этого элемента в энтеральную среду из пищи и воды компенсировался за счет эндогенного выделения. Вероятно, можно говорить о гомеостазировании содержимого ЖКТ, и особенно кишечника, по концентрации кальция и некоторых других макроэлементов.

Влияние соли кадмия на морфофункциональное состояние надпочечников у животных разного пола

Каргина М.В. (Астрахань, chenkel@rambler.ru)

Кадмий – широко распространенный экологический загрязнитель, который вызывает серьезные изменения в организмах. Кадмий в малых дозах оказывает неспецифическое воздействие. В результате происходит бессимптомное накопление изменений в органах и тканях, что выявить клинически не всегда возможно. В настоящее время острое отравление кадмием иногда со смертельным исходом имеет место, но все же оно встречается реже, чем синдром хронической интоксикации. В настоящий момент недостаточно изучено влияние хронической интоксикации кадмием на организм в целом и на отдельные органы в частности. Целью исследования стало изучение морфофункционального состояния надпочечников самцов и самок белых крыс в условиях кадмиевой интоксикации в наиболее контрастные сезоны года – зимний и летний периоды.

Исследования выполнены на 89 беспородных белых крысах, альбиносах серой крысы *Rattus norvegicus*. Средний вес животных составлял к началу эксперимента 180 г. Животных содержали в виварии в стандартных лабораторных условиях, самцов и самок отдельно. Животных делили на группы: контроль (К) и животные, получавшие хлорид кадмия в течение 15 дней (Cd). Интоксикацию животных хлоридом кадмия (CdCl_2) осуществляли внутривентрикулярно с помощью зонда в дозах 0,2 и 2 мг / 100 г массы тела. Длительность эксперимента составляла 15 дней, при сохраненном доступе к воде и пище.

В результате эксперимента были обнаружены следующие отличия в морфофункциональном состоянии надпочечников подопытных животных. При хронической интоксикацией кадмием в различные сезоны у животных разного пола наблюдаются изменения соотношения коркового и мозгового вещества. Зимой под влиянием хлорида кадмия самцов происходит увеличение доли мозгового вещества, а у самок, напротив, уменьшение. Летом наблюдается противоположная картина. С увеличением вводимой дозы кадмия происходит усиление активности надпочечников. Наибольшие изменения при этом наблюдаются в мозговом слое надпочечников, что выражается в увеличении их площади. Вне зависимости от сезона и пола введение хлорида кадмия приводит к увеличению размеров надпочечников, что свидетельствует об усилении их функциональной активности. Половые различия у контрольных животных в большей степени проявляются зимой. При этом площадь надпочечников у самок больше, чем у самцов. Введение соли кадмия вызывает напряжение функциональной активности у самцов в большей степени зимой, а у самок – летом.

Выявленные особенности могут быть учтены при прогнозировании негативного воздействия токсических веществ на организм и установлении ПДК.

Микроциркуляция различных участков кожи лица до и после грязевой аппликации

Касимова С.К. (Астрахань, saule_kasimova@mail.ru)

Кожа выполняет в организме барьерную функцию, направленную на поддержание постоянства биохимического состава и гомеостаза в целом. Однако кожа не является абсолютно непроницаемой границей между внутренней и наружной средами. В нашей работе мы отталкивались от физиологического действия пелоидов на организм, которое происходит благодаря химическим, биологическим, теплофизическим и механическим свойствам. Грязь из исследуемого нами озера является сульфидно-иловой по своему происхождению, в ней содержатся биологически активные вещества, ферменты, гормоноподобные соединения, микроэлементы, сероводород и др. Все это может быть эффективной основой для решения проблем, возникающих в основном в молодом возрасте (расширенные поры, комедоны, себорея, сальные кисты). Цель нашего исследования заключалась в изучении влияния сульфидно-иловой грязи озера Байчик Астраханской области на микроциркуляцию кожи лица в области щек и в области лба.

Изучение микроциркуляции кожи лица осуществлялось с помощью лазерного анализатора скорости поверхностного капиллярного кровотока «ЛАКК-01», (длина волны 632 нм). Для оценки микроциркуляции с помощью лазерной доплерографии (ЛДФ) использовали параметр М – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции, перф.ед. Также проводился анализ функционирования активных механизмов, обусловленных миогенной активностью вазомоторов и нейрогенными влияниями, пассивных механизмов, обусловленных сердечными и респираторными ритмами регуляции кровотока, дополнительно учитывался реологический фактор (внутрисосудистое сопротивление). Время аппликации – 10 минут, грязь – 30⁰С, рН=7,0. Все измерения проводили до нанесения грязевой аппликации, через 5 и через 15 минут после грязевой аппликации. Всего в эксперименте участвовали 41 доброволец в возрасте от 16 до 5 лет. Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием критерия Стьюдента и коэффициента корреляции (программа «BIOSTAT»).

В ходе исследования были получены неравнозначные данные для разных областей кожи лица. Показатель перфузии ткани во всех областях измерения через 5 мин был выше контрольных значений, при 15-минутном измерении происходило возвращение к исходным значениям. Анализ показал, что преобладающее значение в области лба имели снижение активности гладкомышечных клеток и сосудистого тонуса. Изменение микроциркуляции может быть объяснено наличием прямой положительной связи ($r=0,8$, $p<0,01$) между уровнем вазомотий и средним показателем перфузии ткани. Тогда как в области щек через 15 мин начинал преобладать пассивный механизм флуктуаций. На основании выше изложенного можем сделать вывод о том, что аппликации сульфидно-иловой грязи озера Байчик Астраханской области оказывают на кожу лица благотворное влияние, что выражается в усилении микроциркуляции и способствует лучшей трофике за счет комплекса биологически активных веществ, содержащихся в пелоиде и стимулирующих процессы кровообращения и обмена веществ. Полученные данные позволяют рекомендовать грязь данного озера для использования в лечебно-косметических целях.

Автор выражает благодарность профессору, д.б.н. Е.И. Кондратенко за помощь в подготовке тезисов.

Показатели умственной работоспособности учащихся разных биоритмологических групп для разработки здоровьесберегающих технологий в обучении

Колканова Б.Н. (Элиста, B.Kolkanova@mail.ru)

Одной из приоритетных задач учебно-воспитательного процесса школы – является сбережение и укрепление здоровья учащихся. Низкий уровень психического и физического здоровья предопределяет внедрение здоровьесберегающих технологий, которые включают составление карты здоровья, определение уровня интеллектуального развития и индивидуальный подход для каждого ученика. Показателем интеллектуального развития является умственная работоспособность, которая зависит от множества факторов: от образа жизни, психосоциальных факторов, гено- и фенотипических, половых, возрастных, от физического развития, организации и условий трудовой деятельности, а также от сугубо индивидуальных биологических ритмов человека. Практическая значимость данного исследования состоит в мониторинге уровня умственной работоспособности различных биоритмологических групп учащихся для планирования учебного процесса учащихся средних школ в рамках разработки здоровьесберегающих технологий в обучении.

При выполнении работы использовали общепринятую методику определения биологического ритма, по результатам которой учащихся разделили на три типа: «жаворонки», «совы» и «голуби». Для каждого типа исследовали уровень умственной работоспособности по показателям: объем и качество умственной работоспособности; коэффициент подвижности нервных процессов; коэффициент продуктивности работы. Для определения утомляемости и влияния дневной учебной нагрузки на ЦНС школьников корректурные задания давали им на первом уроке (исходный уровень), а затем на последнем уроке (результаты влияния учебной нагрузки).

Сравнительный анализ показателей умственной работоспособности (объем O , качество K , коэффициент подвижности нервных процессов Q и коэффициент продуктивности работы A) показал достоверное ($p < 0,05$) различие точности и продуктивности между биоритмологическими группами. У «жаворонков» эти показатели утром выше, так например коэффициент подвижности нервных процессов ($Q=2$) и коэффициент продуктивности работы ($A=1$) близок к норме на первом уроке ($Q=1,8 \pm 0,05$; $A=0,8 \pm 0,03$) и понижается к последнему уроку ($Q=1,7 \pm 0,06$; $A=0,7 \pm 0,05$). Объем и качество умственной работоспособности также по-разному изменяются в течение дня. Так, у «жаворонков» на первом уроке показатели $O=359 \pm 41$; $K=5 \pm 3$, а на последнем – $O=304 \pm 38$; $K=9 \pm 3$. Это свидетельствует о том, что оптимум работоспособности, в данном случае умственной, «жаворонков» приходится на первую половину дня. У «сов» эти же показатели близки к норме, наоборот, на последнем уроке ($Q=1,8 \pm 0,06$; $A=0,9 \pm 0,03$; $O=327 \pm 33$; $K=8 \pm 3$), по сравнению с первым уроком ($Q=1,7 \pm 0,04$; $A=0,8 \pm 0,03$; $O=403 \pm 34$; $K=5 \pm 2$). Это говорит о том, что «совам» лучше работает во второй половине рабочего дня. Так называемые голуби или аритмики занимают промежуточное положение, у них наблюдаются особенности как «жаворонков», так и «сов», поэтому вполне закономерно, что эти показатели у них почти не изменились в течение дня.

Умственная работоспособность индивидуума зависит от его биоритма и постоянно меняется с определенной, свойственной данному человеку закономерностью и согласуется с одним из основных критериев здоровьесберегающей педагогической технологии – успешность учения (уровень развития мыслительных операций, темп развития познавательных процессов: памяти, внимания, восприятия и мышления).

Влияние тиролиберина и его синтетического аналога дигипрамина на некоторые функциональные свойства эритроцитов и тромбоцитов

Кольчугина Е.В. (Москва, kol4u@mail.ru)

В последнее время интенсивно изучаются физиологические свойства пептидов гипоталамуса (регуляторных пептидов), в том числе свойства, не связанные с гормональным действием нейропептидов. Одним из таких регуляторных пептидов является тиролиберин. Известен синтетический аналог тиролиберина – дигипрамин. Особое место в современных исследованиях занимает изучение влияния тиролиберина на структурные особенности эритроцитов. Показано, что пептид индуцирует изменение в структуре мембраны клеток, влияя тем самым на их функциональную активность и снабжение кислородом тканей. От состояния мембран эритроцитов зависит устойчивость к различным повреждающим агентам.

Стрессогенные нагрузки разной интенсивности вызывают изменение мембран эритроцитов. Наиболее простым методом оценки физико-химических свойств эритроцитов является исследование их осмотической резистентности. Метод основан на количественном определении степени гемолиза в гипотонических растворах хлорида натрия. Целью данной работы является изучение изменения функциональной активности клеток крови под действием тиролиберина и дигипрамина при добавлении пептидов непосредственно в кровь (*in vitro*), при введении пептидов в организм (*in vivo*), а также в условиях стрессорной нагрузки. В работе использовался метод определения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов и метод определения осмотической резистентности эритроцитов (степени гемолиза).

Полученные результаты исследований говорят о том, что только в условиях стрессорной нагрузки тиролиберин и дигипрамин оказывают влияние на осмотическую резистентность эритроцитов. Так, при профилактическом применении тиролиберина повышалась устойчивость эритроцитов к гемолизу, и гемолитическая реакция развивалась при более низких концентрациях хлорида натрия в растворе. Однако при введении тиролиберина на фоне стрессорной нагрузки осмотическая резистентность эритроцитов значительно не изменялась. Для дигипрамина наблюдается обратная тенденция. Профилактическое введение дигипрамина усиливает гемолиз эритроцитов. Однако в отсутствии стресса ни тиролиберин, ни дигипрамин не влияют на осмотическую резистентность эритроцитов, что показано как в опытах *in vitro*, так и в опытах *in vivo*.

Тиролиберин так же обладает стимулирующим действием на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов, как в опытах *in vitro*, так и в опытах *in vivo*, однако статистически достоверный результат получен лишь для опытов *in vitro*.

Влияние фазы эстрального цикла на эффективность иммунизации самок лабораторных мышей

Концевая Г.В. (Кемерово, galin.ka08@mail.ru)

Хорошо известно, что смена фаз эстрального цикла у самок обусловлена изменениями уровня половых гормонов. Так во время проэструса происходит повышение уровня гонадотропного гормона, эстрадиола и прогестерона, которые обладают иммуномодулирующим действием. В связи с этим встает вопрос о влиянии фаз эстрального цикла на эффективность иммунного ответа, лежащего в основе устойчивости вакцинированных животных к болезням.

В данной работе мы оценивали титр антител при интраназальном введении инактивированного вируса гриппа самкам лабораторных мышей линии BALB/c в разные стадии эстрального цикла. У самок, иммунизированных в фазе эструса и проэструса, был отмечен более высокий титр антител к вирусу гриппа, по сравнению с самками,

иммунизированными в стадию диэструса и метаэструса ($Z=2,39$, $p=0,017$, $d.f.=52$). При повторной вакцинации различия между этими группами нивелировались ($Z=0,84$, $p=0,40$, $d.f.=52$). Однако корреляция титров антител при первой и второй иммунизациях была достоверно высокой ($R=0,60$, $p<0,001$, $d.f.=52$). В эксперименте по изучению устойчивости к заражению вирусом гриппа самок, иммунизированных в разные стадии эстрального цикла, было получено, что только у двух самок из восьми течение болезни осложнялось отеком легких, если они при вакцинации были в стадии эструса или проэструса. У самок, иммунизированных в диэструсе и метаэструсе отек легких был отмечен в восьми случаях из одиннадцати ($X^2=4,23$, $p<0,05$). Кроме того, у таких самок температура тела была достоверно выше, чем у самок, вакцинированных в эструсе и проэструсе ($Z=2,59$, $p<0,01$, $d.f.=17$).

В другом эксперименте мы оценивали влияние фаз эстрального цикла на соотношение T_{x1}/T_{x2} иммунных ответов, вызванных введением нереплицируемого антигена (KLH-keyhole limpet haemocyanin). При внутрибрюшинной иммунизации самок лабораторных мышей линии ICR гемоцианином продемонстрировано, что максимальное антителообразование (IgG) происходит при введении антигена в фазу проэструса. При этом наибольшее образование антител изотипа IgG1 (T_{x2}-зависимого) происходит при введении KLH в фазу проэструса ($t=3,77$, $p=0,005$, $d.f.=8$, по сравнению с диэструсом). Судя по соотношению изотипов IgG1 и IgG2a, в фазу проэструса происходит наибольший сдвиг в пользу гуморального иммунного ответа.

Таким образом, фаза эстрального цикла во время иммунизации влияет на концентрацию и соотношение T_{x1}- и T_{x2}-зависимых специфических антител, и тем самым изменяет эффективность вакцинации.

Динамика развития эндотоксикоза у крыс с экспериментальной опухолью лимфосаркомой Плисса

Кулакова К.В. (Нижний Новгород, kulakova-k@yandex.ru)

Развитие опухолевого процесса в организме неизменно сопровождается существенными изменениями всех видов метаболизма. Понятие эндогенной интоксикации включает в себя комплекс симптомов патологических состояний органов и систем организма, обусловленных накоплением в тканях и биологических жидкостях эндотоксинов. Регистрация спектра исследуемого раствора в ультрафиолетовой зоне позволяет произвести комплексную оценку токсических повреждающих факторов и более 200 наименований веществ нормального и патологического метаболизма. К разряду веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) относятся нетоксические соединения: мочевины, креатин, глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты, ренин, цАМФ, глюкагон, инсулин, паратгормон, серотонин, гистамин, адреналин и др., которые в высоких концентрациях совместно могут проявлять токсическую активность. В работах В.А. Горькова и Л.С. Васильевой (1973) отмечено, что развитие лимфосаркомы Плисса идет неравномерно. Можно предположить, что на характер изменения метаболического статуса организма-опухоленосителя будут влиять фазы развития опухоли. Цель настоящей работы – изучить изменение степени эндогенной интоксикации в плазме крови животных с перевитой лимфосаркомой Плисса в течение 21 дня после трансплантации опухоли.

Эксперименты выполнены на 84 белых нелинейных крысах, самцах. Было выделено 14 групп животных – 7 контрольных (здоровые животные; забои осуществлялись на протяжении 3 недель с интервалом в 3 дня, итого – 7 забоев по 6 животных в опыте) и 7 экспериментальных (животные с перевитой опухолью, забои осуществлялись на протяжении 3 недель с интервалом в 3 дня, итого – 7 забоев по 6 животных в опыте). Модель неоплазии у животных 7 экспериментальных групп создавалась путем перевивки опухолевого штамма лимфосаркома Плисса, приобретенного в НИИ

Экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. И.Н.Блохина РАМН (Москва). Определение веществ низкой и средней молекулярной массы, характеризующих уровень эндогенной интоксикации, проводилась на спектрофотометре Helios «Thermo Spectronic» по методу М.Я. Малаховой.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью персонального компьютера с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. (Windows XP). Применялись методы непараметрической статистики: для выяснения различий между выборками – ранговый анализ вариаций по Краскелу-Уоллису (при $p < 0,05$ средние выборок считались статистически значимо отличающимися друг от друга). Анализ содержания ВНСММ в плазме крови экспериментальных животных показал, что уже через 3 суток после трансплантации опухоли происходит повышение уровня интоксикации, после чего наблюдается некоторое снижение и в период с 12 по 18 дни уровень ВНСММ стабилен, после чего наблюдается значительное повышение уровня интоксикации животных-опухоленосителей.

Таким образом, выявлено наличие двух пиков – через 6 дней после трансплантации опухоли и в терминальной точке эксперимента – на 21 день после перевивки. Различия между исследуемыми группами статистически значимы.

Влияние одорантов на вегетативные параметры в условиях сложной сенсомоторной деятельности

Кундупьян О.Л., Кундупьян Ю.Л., Старостин А.Н. (Ростов-на-Дону, diamanta@mail.ru)

Влияние запахов на вегетативные параметры обусловлено тесной связью обонятельного анализатора с лимбической системой головного мозга, регулирующей интегративные процессы парасимпатической и симпатической нервных систем. Активация обонятельной сенсорной системы может мобилизовать механизмы памяти, внимания, эмоций и проявляться в изменении вегетативных параметров. Цель нашей работы была изучить влияние одорантов на вегетативные параметры в условиях сложной сенсомоторной деятельности.

В обследовании принимали участие 20 человек в возрасте от 17 до 30 лет. Каждое из обследований заключалось в выполнении в течение 60 мин сложной сенсомоторной реакции (ССМР) в ответ на случайно чередующиеся зрительные и слуховые воздействия с межстимульным интервалом 4 с. Для осуществления аромокоррекции текущего состояния через 20 минут после начала серии испытуемому предъявляли аромат розмарина или Melissa открытым способом на расстоянии 2 см от кончика носа. Выбор и реализация режимов стимуляции, регистрация ЭКГ, пневмограммы и времени реакции (ВР) осуществлялись при помощи компьютерного энцефалографа-анализатора «Энцефалан-131-03». По данным ЭКГ вычисляли средние значения кардиоинтервала. Согласно результатам пневмограммы рассчитывали среднее значение дыхательного интервала в экспериментальной ситуации.

В результате проведенных исследований было обнаружено, что выполнение сложной сенсомоторной реакции, в целом, приводит к снижению ЧСС по сравнению с фоновой группой тестов. Введение в экспериментальную среду ароматов розмарина и Melissa вызывало достоверное снижение времени сложной сенсомоторной реакции для правой и левой руки в среднем на 50 мс, по сравнению с деятельностью в отсутствие одорантов. Предъявление розмарина в тестовой процедуре приводило к уменьшению среднего значения кардиоинтервалов. Выполнение сложной сенсомоторной реакции на фоне розмарина и Melissa приводило к учащению дыхания по сравнению с тестом без одорантов и при использовании воды в качестве контроля.

Таким образом, розмарин обладает активирующим действием на сердечную деятельность, в то время как Melissa или не оказывает эффекта в случае ССМР или приводит к снижению активности. И Melissa и розмарин оказывают активирующее

действие на дыхательную систему и также улучшают выполнение сложной СМР, что вероятно является результатом гуморального действия одорантов на функциональное состояние человека.

Эндотелиальные механизмы активации опиатных рецепторов в условиях острого стресса

Курицын С.Н. (Архангельск, skur74@yandex.ru)

Система опиоидных пептидов в условиях острого стресса оказывает модулирующее влияние на периферический сосудистый тонус. Кроме того, в последнее время увеличился интерес к изучению роли эндотелия в регуляции тонуса сосудов, а обнаружение в нем различных типов опиатных рецепторов свидетельствует о возможном участии эндотелиальных факторов в механизме опиоидергической модуляции периферического сосудистого тонуса.

В условиях острого иммобилизационного стресса у крыс популяции Wistar при оценке тонуса сосудов методом вазореографии был выявлен рост периферического сосудистого тонуса (ПТС) и снижение эластичности сосудов (ИЭ).

Введение неселективного агониста μ - и δ - опиатных рецепторов (ОР) даларгина и селективных агонистов: μ -ОР – DAGO, δ -ОР – DSLET, κ -ОР – динорфина A₁₋₁₃ в дозе 100 мкг/кг внутривенно за 5 мин до начала стрессирования приводили к протективному эффекту на стрессобусловленную вазоконстрикцию. Максимальное протективное действие оказывала селективная стимуляция μ -ОР при помощи DAGO и неселективная стимуляция μ - и δ - ОР даларгином.

На фоне роста ПТС в условиях острого стресса изменялась концентрация вазоактивных эндотелиальных факторов: наблюдалось снижение уровня оксида азота (NO) и повышение уровня эндотелина-1 (Э-1). Причем, при введении DAGO его модулирующее влияние на ПТС сопровождалось максимальным снижением уровня Э-1, а введение даларгина приводило к ярко выраженному увеличению NO.

Использование неселективного блокатора эндотелиновых рецепторов PD 145.065, и блокатора NO-синтазы (NOS) – LNNA позволило установить, что протективный эффект даларгина на стрессобусловленную вазоконстрикцию в большей степени связан с изменением активности системы NO, а протективный эффект DAGO обуславливается изменением активности системы Э-1.

Так, было установлено, что предварительная блокада NOS приводила к исчезновению протективного эффекта даларгина и в значительной степени снимала даларгин-опосредованное увеличение уровня NO, в то время как на фоне блокады эндотелиновых рецепторов с последующим введением даларгина наблюдался суммарный протективный эффект.

Предварительная блокада NOS приводила к снижению протективного эффекта DAGO, но не снимала его полностью, а в условиях введения PD 145.065 и последующим введением DAGO наблюдался незначительный суммарный протективный эффект на стрессобусловленную вазоконстрикцию, т.е. показатели ИПС практически не отличались от значений на фоне изолированного введения DAGO.

Полученные данные свидетельствуют о ведущей роли Э-1 в протективном действии DAGO на стрессобусловленные изменения ПТС и NO в протективном действии даларгина. Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках гранта Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 08-04-98817). Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Н.А. Бебяковой за помощь в подготовке тезисов.

Взаимосвязь эндогенной интоксикации и избыточной массы тела

Курочкина Е.Л. (Архангельск, katty77@yandex.ru)

Многочисленные данные свидетельствуют об увеличении веществ среднемолекулярного пула и развитии эндогенной интоксикации (ЭИ) при различных патологических состояниях, в том числе и при нарушениях обмена веществ. Избыточное накопление в организме питательных веществ, причиной которого является ожирение, создает их повышенный катаболизм, вследствие чего повышается риск увеличения содержания токсинов.

В связи с этим целью работы являлось изучение уровня ЭИ у мужчин и женщин с нормальной, избыточной массой тела и ожирением. Было обследовано 288 женщин и 110 мужчин в возрасте 20-55 лет. Индекс массы тела (ИМТ) определяли с помощью индекса Кетле. В норме ИМТ составляет от 19,0 до 23,9 кг/м². Критериями диагностики избыточной массы тела и ожирения являются значения ИМТ от 24 до 29,9 и более 30 кг/м² соответственно. Уровень ЭИ оценивали по содержанию веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) и олигопептидов (ОП) в плазме, эритроцитах и моче. Для определения уровня ВНиСММ использовали методику М.Я. Малаховой (1995). Для определения концентрации ОП в биологических жидкостях – метод О.Н. Lowry (1951).

Оценка ВНиСММ и ОП у женщин с разным ИМТ показала, что в плазме концентрация этих веществ достоверно выше у женщин с ожирением (11,33±0,41 и 0,26±0,01 соответственно) по сравнению с обследованными, имеющими нормальную массу тела (9,71±0,24 и 0,65±0,01 соответственно) (p<0,05). Уровень ВНиСММ в эритроцитах также был достоверно выше у женщин с высоким ИМТ (30,81±1,02) по сравнению с обследованными, имеющими нормальную и избыточную массу тела (27,65±0,43 и 27,61±0,61 соответственно) (p<0,05). Высокие концентрации ВНиСММ в эритроцитах у женщин с ожирением говорят о повышении среднемолекулярных веществ на гликокаликсе эритроцитов. Благодаря наличию в структуре эритроцитарных мембран белка гликоферона А, они обладают наибольшей по отношению к белкам плазмы сорбционной емкостью, что позволяет выполнять эритроцитам транспортную функцию, значение которой возрастает при процессах интоксикации в организме.

Количественная оценка среднемолекулярных веществ у мужчин с разным ИМТ выявила, что у мужчин с ИМТ 30 кг/м² и более уровень ВНиСММ в плазме достоверно выше (14,6±0,94) по сравнению с обследованными, имеющими ИМТ 19,0 до 23,9 кг/м² (11,39±0,37) (p<0,05). При этом у мужчин с ожирением также отмечены достоверно более высокие концентрации этих веществ в моче по сравнению с обследованными, имеющими нормальную массу тела (36,55±3,53 и 27,89±1,54 соответственно), что видимо, связано с усилением детоксикационной функции почек.

Интегральный показатель ЭИ – индекс интоксикации (ИИ), характеризующий накопление среднемолекулярных веществ в крови в пределах нормы (20,5±0,3ЕД) был отмечен у мужчин и женщин с нормальной массой тела, в то время как у обследованных с высоким ИМТ средние значения ИИ выходили за пределы нормальных значений (22,84±1,28 и 25,58±1,61 ЕД у мужчин и женщин с ожирением соответственно).

Таким образом, проведенное обследование показало, уровень ВНиСММ и ОП в биологических жидкостях, являющихся маркерами эндогенной интоксикации повышается с увеличением массы тела, как у мужчин, так и у женщин. При этом снижение токсических веществ в плазме у женщин осуществляется за счет усиления транспортной функции эритроцитов, а у мужчин за счет активации детоксикационной функции почек.

Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Н.А. Бебяковой за помощь в подготовке тезисов.

Особенности поведения торакального и абдоминального компонентов системы дыхания при воспроизведении заданного дыхательного объема у мужчин и женщин, обусловленные положением тела в пространстве
Маркова К.Б. (Тверь, ayineskm@yandex.ru, ayinesk@mail.ru)

10 мужчин и 10 женщин в положениях стоя и лежа на спине без использования зрительного контроля воспроизводили заданный дыхательный объем, соответствующий усредненному спонтанному ($1V_T$). С использованием компьютерного безмасочного пневмографа определялись ошибки с преувеличением (+ Δ), с преуменьшением (- Δ) заданного объема, их сумма (суммарное отклонение от уровня заданного объема без учета знака - Δ), а также их торакальные и абдоминальные составляющие.

При спонтанном дыхании и мужчины, и женщины в положении стоя дышат, практически в равной степени используя торакальный и абдоминальный компоненты системы дыхания. В положении лежа в обеих группах испытуемых преобладающим становится абдоминальный вклад в вентиляцию легких.

Выявлено, что у мужчин в вертикальном положении величина Δ составила 158 ± 33 мл, + Δ - 135 ± 41 мл, - Δ - 23 ± 11 мл практически при одинаковом соотношении их торакальных и абдоминальных составляющих. В положении лежа точность воспроизведения заданного дыхательного объема оказалась существенно выше за счет уменьшения (более, чем в два раза) торакальной и абдоминальной составляющей ошибки с преувеличением.

В вертикальном положении точность воспроизведения заданного дыхательного объема у женщин оказалась значительно выше, нежели у мужчин ($p < 0,05$). Так, Δ составила 67 ± 13 мл, + Δ - 48 ± 17 мл, - Δ - 19 ± 7 мл. Характерно, что в положении лежа точность воспроизведения (по сравнению с положением стоя) у женщин по суммарной ошибке существенно не изменилась, несмотря на увеличение абдоминальной составляющей ошибки с преуменьшением.

Следует отметить, что во всех случаях величины ошибок с преувеличением и преуменьшением оказались меньше сумм торакальных и абдоминальных их составляющих, что свидетельствует об асинхронности торакальных и абдоминальных дыхательных движений при воспроизведении заданного дыхательного объема.

Таким образом, испытуемые оказались способными довольно точно воспроизводить заданный дыхательный объем при дыхании воздухом без зрительного контроля.

Считается, что при произвольном управлении дыхательными движениями без внешней обратной связи человек использует, прежде всего, информацию от проприоцепторов дыхательных мышц. Учитывая обнаруженное в исследовании отсутствие достоверных различий торакальных и абдоминальных ошибок у всех испытуемых, можно полагать, что при произвольном контроле дыхания, кроме проприоцептивной информации, используется информация с других рецепторных зон дыхательного аппарата (от рецепторов верхних дыхательных путей, тактильных рецепторов).

Районы организаторов ядрышка в лимфоцитах крови щенков серых тюленей
Минзюк Т.В. (Мурманск, minzyuk@mail.ru)

Точное знание морфологических и цитохимических параметров клеток крови необходимо для диагностики и прогноза состояния различных органов и тканей, кроветворной системы, в высокой степени подверженной повреждающему действию физических и химических факторов, влияние которых на водных животных в последние годы усиливается. Известно, что характеристики ядрышек отражают интенсивность синтеза РНК и белка в клетке. К ним относится, в частности, интенсивность окрашивания серебром белков районов организаторов ядрышка (ЯОРАg),

участвующих в процессах биосинтеза и созревания пре-рРНК. Определение количественных параметров ЯОРАg (число, размеры) в лимфоцитах периферической крови дает возможность судить об интенсивности их пролиферации в кроветворных органах. В то же время закономерности изменения активности организаторов ядрышка в онтогенезе животных изучены мало.

Материал для исследования получен от новорожденных, питающихся молоком, завершивших молочное питание и от самостоятельно питающихся рыбой щенков серого тюленя. Количественные параметры клеток (площадь ядра и площадь ЯОРАg) оценивали при помощи видеосистемы и программного обеспечения Axio Vision 4.5 фирмы Zeiss. Для оценки активности организаторов ядрышка вычисляли отношение площади ядрышкообразующего района к площади ядра лимфоцита. Использование данного относительного показателя обусловлено тем, что в разных частях одного препарата и в различных препаратах клетки подвергаются неодинаковой степени сжатия.

Морфологическое исследование мазков крови щенков серых тюленей различных возрастных групп показало, что в группе тюленей, питающихся рыбой, в отличие от животных первых 3-х групп, наблюдается отсутствие метамиелоцитов, наиболее низко содержание палочкоядерных, т.е., не вполне дифференцированных нейтрофилов. У них также, наряду с закончившимися молочное питание, но еще не кормящимися рыбой, щенками, более высокое, чем у остальных тюленей, содержание эозинофилов. Последнее, вероятно, является следствием алергизации веществами, поступившими из воздуха и пищи. Эозинофилия, согласно исследованиям млекопитающих различных видов, – один из признаков развития аллергических реакций.

Исследование районов организаторов ядрышка показало, что их число в лимфоцитах щенков серых тюленей составляет от 1 до 4. Среди лимфоцитов периферической крови серых тюленей преобладают клетки с одним районом организаторов ядрышка. В период от рождения до возраста 3-4-х месяцев число ЯОРАg у исследуемых животных достоверно снижается. Лимфоциты щенков серых тюленей, начавших самостоятельно питаться рыбой, имеют наименьшие относительные размеры районов организаторов ядрышка. Это свидетельствует о резком снижении интенсивности пролиферации лимфоидных клеток в данный период онтогенеза.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что процессы пролиферации и дифференцировки кроветворных клеток на ранних этапах постнатального онтогенеза у серых и гренландских тюленей протекают менее интенсивно, чем у наземных млекопитающих. Это может быть обусловлено относительно меньшим (в 1.5-2 раза) весом скелета и костного мозга и является, вероятно, одной из причин иммунодефицитных состояний водных млекопитающих.

Сравнительный анализ реактивности норадреналина с адреналином на региональное кровообращение после 30-и дней адаптации к холоду

Мирюк М.Н. (Москва, mikhail.miruk@gmail.com), Ананьев Г.В. (Тюмень), Ипполитов И.В. (Тюмень), Ипполитов Е.В. (Тюмень)

При адаптации к холоду норадреналин и адреналин усиливают термогенез, однако, мало изучена сравнительная их характеристика при действии на периферические артерии. Поэтому, были проведены опыты на кроликах, у которых методом аутоперфузии постоянным объемом крови регистрировали изменение перфузионного давления артериального русла задней конечности на внутриартериальное введение восьми возрастающих доз норадреналина и адреналина после 30-и дней холодной адаптации. Для выяснения механизмов изменения реактивности артериальных сосудов к норадреналину и адреналину животных после 30-дневной холодной адаптации и количественной оценки реактивности артерий производился анализ изменений

перфузионного давления в двойных обратных координатах Лайниувера-Берка, что позволяло определить чувствительность и количество активных адренорецептров.

Максимально возможная (P_m) прессорная реакция артерий конечности к норадреналину после 30-дневного охлаждения уменьшилось на 20% по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Чувствительность реактивности артериальных сосудов к норадреналину после 30-дневного охлаждения была $1/K=1,2$, в контроле этот параметр был равен $1/K=1,2$. Таким образом, после 30-и дневного охлаждения чувствительность артерий к норадреналину стала равна величине чувствительности контрольной группы.

После 30-и дней адаптации к холоду прессорная реакция артерий конечности на все дозы адреналина достоверно ($p < 0,05$) превышала реакции на норадреналин. Максимально возможная (P_m) прессорная реакция артерий после введения адреналина $P_m=294$ мм.рт.ст., в контрольной группе животных $P_m=222,2$ мм. рт.ст. Таким образом, количество активных альфа-адренорецепторов к адреналину увеличилось с $P_m=222$ мм.рт.ст. в контроле до $P_m=294$ мм.рт.ст. после 30-дневного охлаждения, то есть количество активных рецепторов увеличилось в 1,32 раза или возросло на 32% по сравнению с контрольной группой. Чувствительность альфа-адренорецепторов к адреналину $1/K=1,2$ ($1/\text{мкг}\cdot\text{кг}$) после 30-дневного охлаждения стала опять такой же, как до холодовой адаптации.

Сравнительный анализ реактивности адреналина с норадреналином на артерии конечности показал, что на 30-й день холодовой адаптации прессорная реакция на адреналин на все дозы была больше чем на норадреналин на 54% или в 2,15 раза исключительно за счет увеличения количества активных альфа-адренорецепторов к адреналину в 1,32 раза.

Адреналин увеличил прессорные реакции на артерии после 30-и дней холодовой адаптации, а норадреналин наоборот их все снизил по сравнению с контрольной группой. Эти изменения, по нашему мнению, ведут к усилению прогревания периферических тканей за счет увеличения кровотока при действии холода на фоне увеличенной секреции норадреналина. В то же время, при значительном усилении холода начинается секреция большего количества адреналина и это приводит к сокращению артерий и уменьшению прогрева (опасность отморожения) тканей, здесь адреналин выступает как гормон резерва сохранения тепла в организме.

Роль главного комплекса гистосовместимости в ольфакторном предпочтении

Могилина А.А. (Кемерово, tog-anna@yandex.ru)

Экспериментально доказана связь половых предпочтений у млекопитающих с определенными иммунологическими показателями, в частности, с аллельным состоянием генов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Более того, высказано предположение, что ведущая роль МНС в иммунном ответе, имеет вторичное эволюционное значение. Первично, эти молекулы участвовали в виде рецепторов для ольфакторных распознаваний в процессе коммуникаций живых систем. В настоящее время обсуждается роль запахового узнавания при ассортативном выборе брачного партнера по HLA. Исходя из этого, целью настоящего исследования было изучение особенностей запахового предпочтения по HLA DRB1* гену среди неродственных доноров разного пола, для понимания роли МНС в формировании супружеских пар.

Для решения поставленной задачи было проведено исследование на базе Кемеровского государственного университета. Донорами запаха явились юноши в возрасте 17-20 лет (48 испытуемых) и девушки в возрасте 19 – 25 лет (19 испытуемых). Все испытуемые подверглись HLA DRB1* типированию. Каждая девушка провела ольфакторное тестирование 48 юношей, что в целом составило 3648 комбинаций женских и мужских аллелей HLA DRB1*. При исследовании особенностей ольфакторного выбора женщинами, находившимися в нерецептивной фазе овариального

цикла, мужчин выявили избегание формирования семи комбинаций женских и мужских HLA-DRB1* аллелей. Например, женщины с HLA-DRB1*04 аллелем оценивали запах мужчин HLA-DRB1*04 аллелем как неприятный. Далее, для этой же ситуации, было найдено шесть положительных ассоциативностей по HLA-DRB1* гену. В большинстве случаев положительные ассоциации были связаны с мужским HLA-DRB1*14 аллелем. При оценке особенностей запахового выбора женщинами, находящимися в рецептивной фазе овариального цикла, мужчин обнаружили 11 отрицательных ассоциативных комбинаций женских и мужских HLA-DRB1* аллелей. Предпочтение наблюдалось для 24 комбинаций женских и мужских HLA-DRB1*. Среди исследованных женщин, находящихся в любой фазе овариального цикла и экспрессирующих HLA-DRB1*04 аллель, было выявлено стойкое отторжение к HLA-DRB1*11 и HLA-DRB1*15 мужским аллелям.

Уже на этом этапе исследования видно, что запаховое узнавание носит аллель-специфичный характер по HLA-DRB1*. Результаты полученных исследований могут быть фундаментальной основой для обоснования использования HLA типирования на этапе планирования семьи.

Определение навязанных ритмов физиологических реакций дермальных меланофоров у личинок *Xenopus laevis* в условиях световой депривации *Молчанов А.Ю. (Москва, AlexanderMSU@gmail.com)*

Важной задачей современной биологии и медицины является изучение ритмов организма как одного из главных показателей нормальной жизнедеятельности. На данный момент ритмы обнаружены в большинстве биологических процессов, имеющих частоту от нескольких десятков герц, характерные для активности отдельных элементов клетки, до ритмов с годовым периодом колебаний, характерных для сезонной активности организма. Одним из связующих элементов колебаний этих систем является гормон мелатонин. Мелатонин обнаружен во всех живых существах от простейших до человека и выполняет аналогичную функцию модулятора и координатора ритмов клеточной и органной активности. Он не только поддерживает уже устоявшиеся ритмы, но и упорядочивает адаптационные процессы физиологических реакций организма в ответ на изменения характера световой периодики. По своей природе мелатонин – это заключительное звено в ферментативном пути преобразования триптофана. А его непосредственным предшественником является серотонин, накапливающийся в организме в течение дня. Поскольку мелатонин является гормоном, регулирующим быстрое изменение окраски холоднокровных животных, разрабатываемая в нашей группе на протяжении многих лет модель – меланинсодержащие пигментные клетки (меланофоры) личинок амфибий, – позволяет косвенно детектировать мелатонин по степени дисперсии пигментных гранул в меланофорах, характеризующейся т.н. меланофорным индексом.

Нашей группой проведено множество работ на личинках бесхвостых амфибий *Xenopus laevis*, *Rana temporaria* и *Rana esculenta* разных стадий по определению циркадианных ритмов колебаний меланофорного индекса в клетках кожи, являющихся косвенным показателем уровня мелатонина в тканях личинок. В условиях высокой концентрации мелатонина, что соответствует темновой фазе, пигментные гранулы (меланосомы) в клетках агрегируют, а в условиях низкой концентрации, т.е. в течение световой фазы, меланосомы диспергированы по всей клетке. В наших работах показано, что навязанный суточный ритм 14L:8D сохраняется в условиях последующей световой депривации. Показано, что ритм дисперсии/агрегации пигмента в меланофорах сохраняется в течение примерно 5 суток, с постепенным смещением либо к агрегированному состоянию, что свойственно для личинок ранних стадий, либо к диспергированному состоянию, что характерно для личинок, вступивших на путь

метаморфоза, во время которого происходит в т.ч. и замена пигментных клеток покровов личиночного типа на более сложно устроенные пигментные комплексы, характерные для кожи взрослых животных. Отмеченный нами переход меланофоров личинок поздних стадий к устойчивой фазе дисперсии пигментных гранул может быть трактовано, как нарушение процессов направленного перераспределения пигмента, вызванное апоптотическими процессами самой клетки, вероятно, обусловленных процессами метаморфоза.

Вклад Rho-киназы и протеинкиназы C в изменения Ca^{2+} -чувствительности сосудов новорожденных и взрослых крыс, вызванные деполяризацией

Мочалов С.В. (Москва, hippo.step@gmail.com)

Известно, что при одинаковой внутриклеточной концентрации кальция ($[Ca^{2+}]_i$), гладкомышечные клетки сосудов в ответ на один и тот же стимул могут развивать сокращение разной силы, в зависимости от уровня Ca^{2+} -чувствительности их сократительного аппарата. Ca^{2+} -чувствительность в основном регулируется за счет изменения уровня фосфорилирования легких цепей миозина (ЛЦМ) при данной $[Ca^{2+}]_i$, то есть зависит от активности фосфатазы ЛЦМ. Существует два пути регуляции активности ЛЦМ: путем изменения активности Rho-киназы (RhoK) и/или протеинкиназы C (PKC). Увеличение активности RhoK и PKC приводит к ингибированию фосфатазы ЛЦМ и вызывает усиление сокращения при данной $[Ca^{2+}]_i$. Ранее мы показали, что при одинаковой $[Ca^{2+}]_i$ сосуды новорожденных крыс развивают более сильное сокращение, чем взрослых, то есть Ca^{2+} -чувствительность сократительного аппарата гладкой мышцы сосудов в раннем возрасте выше. В последние годы появились данные о том, что увеличение Ca^{2+} -чувствительности может происходить как при активации рецепторов, сопряженных с G-белками, так и под воздействием деполяризации наружной мембраны гладкомышечных клеток. Мы предположили, что повышение Ca^{2+} -чувствительности при деполяризации также связано с большей активностью киназ, ингибирующих фосфатазу ЛЦМ. В связи с этим целью данной работы было изучить вклад RhoK и PKC в вызванные деполяризацией изменения Ca^{2+} -чувствительности сосудов у новорожденных (5-10 дней) и взрослых (2,5-3,5 месяца) крыс. Для этого были использованы ингибиторы RhoK и PKC Y27632 (3мкМ) и GF 109203X (1мкМ), соответственно.

В опытах использовали кольцевые сегменты подкожной артерии длиной около 2 мм. Проводили одновременную регистрацию силы сокращения и $[Ca^{2+}]_i$ (с использованием FURA-2) при постепенном повышении концентрации Ca^{2+} в окружающем препарат растворе от 0 до 3 мМ. В каждом опыте такие измерения проводили при физиологической концентрации K^+ в растворе (5 мМ), при деполяризации (42 мМ K^+), а также при совместном действии деполяризации и одного из ингибиторов.

У взрослых крыс KCl-деполяризация приводила к увеличению силы сокращения, $[Ca^{2+}]_i$ и Ca^{2+} -чувствительности. Ингибитор RhoK сильно снижал силу сокращения и Ca^{2+} -чувствительность, а снижение $[Ca^{2+}]_i$ было небольшим. Ингибитор PKC также немного подавлял $[Ca^{2+}]_i$ и силу сокращения, но не влиял на Ca^{2+} -чувствительность. Таким образом, RhoK не оказывает существенного влияния на активность потенциалуправляемых Ca^{2+} каналов, но опосредует увеличение Ca^{2+} -чувствительности, вызванное KCl деполяризацией. Вклад PKC у взрослых крыс невелик.

У новорожденных крыс KCl деполяризация также приводила к увеличению силы сокращения и Ca^{2+} -чувствительности, но не оказывала влияния на $[Ca^{2+}]_i$. Ингибиторы RhoK и PKC не изменяли $[Ca^{2+}]_i$, но снижали силу сокращения и Ca^{2+} -чувствительность, причем эффект ингибитора RhoK был намного более выражен. Таким образом, у новорожденных животных деполяризация приводит к активации RhoK и PKC, причем такое влияние деполяризации не зависит от возрастания $[Ca^{2+}]_i$.

В целом, полученные данные позволяют заключить, что КС1-деполяризация увеличивает Ca^{2+} -чувствительность сокращения гладкой мышцы, этот эффект обусловлен активацией у взрослых животных только RhoK, а у новорожденных еще и РКС, и не зависит от повышения $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

Работа поддержана РФФИ (грант № 07-04-01527).

Поведение торакального и абдоминального компонентов системы дыхания при повторяющихся гипоксически-гиперкапнических воздействиях

Орлова Н.О. (Тверь, nadezhda2910@rambler.ru)

Стимуляция хеморецепторов служит неременным условием поддержания ритмической активности дыхательного центра. При этом доминирует гиперкапнический стимул, интенсивность которого определяется напряжением двуокиси углерода и концентрацией водородных ионов во внутренней среде организма – внеклеточной жидкости мозга и артериальной крови. В связи с этим основной целью настоящей работы явилось исследование динамики интенсивности реакций системы дыхания на хеморецепторную стимуляцию при повторяющихся гипоксически-гиперкапнических воздействиях.

У 6 практически здоровых женщин в возрасте 18-22 лет, привычных к экспериментальной обстановке, изучена динамика реакций торакального и абдоминального компонентов аппарата дыхания на гиперкапнию в процессе многократного повторения гипоксически-гиперкапнической пробы (5 сеансов с перерывом между сеансами не менее одних суток). В каждом сеансе в положении сидя испытуемые дышали в замкнутой системе спирографа без поглощения CO_2 и без добавления в систему O_2 до увеличения P_aCO_2 в среднем на 15 мм рт. ст. При этом регистрировались объемные, временные и скоростные параметры дыхания и их торакальные и абдоминальные составляющие (компьютерный безмасочный пневмограф) при капнографическом (капнограф ГУМ-2) и оксигеметрическом (оксигеметр с ушным датчиком) контроле.

В исходном состоянии испытуемые дышат при практически равном соотношении торакального и абдоминального вкладов в дыхательный объем.

В первом сеансе при гиперпноэ в ответ на гипоксию и гиперкапнию на последней минуте функциональной пробы прирост минутного объема дыхания обеспечивается в основном за счет дыхательного объема при сохранении исходных соотношений торакального и абдоминального вкладов. Частота дыхания остается на исходном уровне. Отмечена несколько более выраженная вентиляторная чувствительность торакального компонента к хеморецепторной стимуляции.

В ходе повторяющихся гипоксически-гиперкапнических воздействий (в пятом сеансе) на последней минуте функциональной пробы наблюдается тенденция к увеличению торакальной составляющей дыхательного объема (относительно первого сеанса) и уменьшения абдоминальной составляющей. В результате дыхательный объем практически не меняется. Частота дыхания и минутный объем вентиляции остаются постоянными. При этом вентиляторная чувствительность торакального компонента имеет тенденцию к увеличению, абдоминального – к уменьшению.

Таким образом, при повторяющихся гипоксически-гиперкапнических воздействиях общая реакция дыхания на хеморецепторную стимуляцию не меняется, на фоне постепенного изменения вкладов в дыхательный объем в пользу торакального.

Изучение защитных свойств рекомбинантного человеческого БТШ70 на модели эндотоксического шока у крыс

Остров В.Ф. (Пушино, ostrov@fibkh.serpukhov.su)

В настоящее время не существует эффективных средств терапии и профилактики сепсиса. Только в США ежегодно регистрируют сепсис примерно у 750,000 пациентов. Из них каждый третий (215,000) заканчивается летальным исходом. Сепсис развивается при проникновении в кровотоки организма Грам(-) бактерий. При их разрушении в кровь поступают эндотоксины, которые являются компонентами клеточной стенки и по структуре представляют собой липополисахариды (ЛПС). Молекулы ЛПС взаимодействуют с рецепторами на поверхности моноцитов (CD14, TLR4, MD2). В результате происходит синтез и секреция в кровь воспалительных цитокинов. Их физиологические эффекты определяют клиническую картину сепсиса. Одним из важных направлений поиска средств защиты от сепсиса является изучение препаратов, способных снижать токсические эффекты ЛПС. Из литературных данных известно, что в экспериментах *in vitro* белка теплового шока 70 кДа (БТШ70) обладают способностью связываться с CD14, TLR-4 и MD-2 рецепторами. В настоящей работе изучалось влияние человеческого рекомбинантного БТШ70 (рБТШ70) на токсические эффекты ЛПС при моделировании эндотоксического шока у крыс.

Эксперименты были выполнены на свободных от патогенной микрофлоры бодрствующих самцах крыс Sprague-Dawley массой 300-350 г. Эндотоксический шок моделировали внутривенным введением ЛПС из *E.coli* в дозе 2 мг/кг. В экспериментальной группе животным за 10 минут до ЛПС внутривенно вводили рБТШ70 в дозе 266мкг/кг. Регистрировали параметры гемодинамики (ср. АД и ЧСС), показатели гемостаза (протромбиновое и тромбопластиновое время гемокоагуляции, время фибринолиза, концентрация фибриногена), показатели биохимии крови (содержание в плазме альбумина, глюкозы, креатинина, общего белка, билирубина, триглицеридов) и выживаемость животных. Мониторинг гемодинамики проводили непрерывно в течение 5 часов после введения ЛПС. Забор крови для анализа параметров гемостаза и биохимии крови проводили до введения веществ, через 20 минут и через 5 часов после введения ЛПС. Выживаемость животных наблюдали в течение 72 часов после введения ЛПС.

Показано, что предварительное введение рБТШ70 снижает токсические эффекты ЛПС, а также статистически значимо снижает смертность от эндотоксического шока с 86% до 30%.

Влияние противоопухолевых препаратов *in vivo* на компоненты антиоксидантной системы мышей с асцитной карциномой Эрлиха

Пургина И.В. (Красноярск, irina_purgina@mail.ru), Денисова О.А., Семесько Н.В.

В настоящее время существует большое количество различных препаратов против опухолей различного генеза. Однако большинство из них проявляют токсические свойства. Одним из наиболее распространенных препаратов является цисплатин, обладающий выраженными цитостатическими, бактерицидными и мутагенными свойствами. Для предотвращения токсического воздействия эти препараты присоединяют на полимеры. В качестве матрицы предпочитают использовать полисахариды растительного происхождения, такие как арабиногалактан лиственницы (АГ). Он характеризуется повышенной биодоступностью, гастропротекторными, мембрано- и иммунотропными свойствами. Биологическая активность данных комплексов находится на стадии изучения. Изменения, происходящие при опухолевом росте, не могут не затрагивать одну из основных систем организма, препятствующую повреждающему действию активных форм кислорода. Целью данного исследования

стало сравнительное изучение влияния АГ-платина и цисплатина *in vivo* на активность некоторых компонентов антиоксидантной системы (АОС) мышей с асцитной карциномой Эрлиха.

Объектом исследования служили опухолевые клетки 135 взрослых белых мышей-самцов. Животных делили на 3 группы по 45 мышей: I животные с карциномой (контроль) и две группы животных с опухолью, которым вводили соответствующие препараты: АГ-платина (II) и цисплатин (III). По 15 мышей из каждой опытной группы забивали на 5, 9 и 13 дни опухоленосительства. О функциональном состоянии АОС судили на основании определения содержания восстановленного глутатиона (GSH) и активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатион-S-трансферазы (GST). Определение активности ферментов и концентрации GSH проводили согласно стандартным методикам.

Проведенное исследование показало, что АГ-платина является наиболее «мягким» противоопухолевым препаратом, в отличие от цисплатина, при этом более явное уменьшение объема асцитной жидкости и опухолевых клеток наблюдалось у животных после лечения АГ-платиной. У мышей II группы активность СОД максимально увеличивалась на 9 день, тогда как у III группы – на 13 день по сравнению с I группой. Активность КАТ в обеих опытных группах была понижена на 5 и 9 день и начинала увеличиваться к 13 дню опухоленосительства по сравнению с опухолевыми клетками, при этом наибольшее снижение и повышение было выявлено у III группы. Активность ГПО была снижена в обеих опытных группах на 5 день, но наибольшее снижение выявлено после лечения АГ-платиной. Динамика активности ГПО у обоих препаратов имеет существенные различия и сходна с динамикой активности СОД. Динамика активности GST и концентрации GSH сходна с динамикой КАТ, но наибольшее снижение активности GST наблюдается у II группы, а увеличение – у III группы. Наиболее выраженные изменения концентрации GSH выявлены у III группы.

В работе обсуждаются возможные механизмы влияния противоопухолевых препаратов на функциональное состояние АОС.

Изучение влияния индивидуальной склонности к тревоге на характер протекания экзаменационного стресса у студентов

Сапёрова Е.В. (Чебоксары, saperova_elena@mail.ru), Любимов И.А.

Одной из важнейших особенностей высшей нервной деятельности, влияющей на характер реакции человека на воздействие социального фактора, имеющего эмоциональную значимость, является склонность к тревоге, определяемая как личностная тревожность (ЛТ). Учет связей между тревожностью и функциональным состоянием механизмов кардиорегуляции чрезвычайно важен для оценки адаптационных возможностей организма и прогнозирования его реакции на социальные нагрузки различного происхождения. Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение влияния личностной тревожности на характер протекания экзаменационного стресса у студентов.

Нами было обследовано 237 здоровых студенток в возрасте 20-25 лет (средний возраст $21,13 \pm 0,08$ года). Обследование проводилось дважды: в межсессионный период и непосредственно перед экзаменом. Регистрация сердечного ритма осуществлялась при помощи программно-аппаратного комплекса ORTO Expert согласно рекомендациям Европейской Ассоциации Кардиологии. Изучение личностной тревожности проводилось посредством теста Спилбергера в межсессионный период. Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистического пакета “Statistica 6.0” с применением ANOVA и вычислением коэффициента корреляции (R).

Среднее значение ЛТ у студенток составило $43,26 \pm 0,76$ балла, что свидетельствует об умеренной личностной тревожности. В ситуации ожидания экзамена были

обнаружены достоверные отличия значений показателей variability сердечного ритма (BCP) между студентками с высоким уровнем тревожности и низким уровнем тревожности: SDNN (соответственно: $0,044 \pm 0,003$ и $0,068 \pm 0,017$; $F=4,50$; $p=0,039$), RMSSD (соответственно: $0,066 \pm 0,025$ и $0,034 \pm 0,003$; $F=6,47$; $p=0,014$), MxDMn (соответственно: $0,284 \pm 0,024$ и $0,807 \pm 0,292$; $F=21,55$; $p=0,0003$), LF (соответственно: $1177,09 \pm 167,59$ и $3302,33 \pm 1320,55$; $F=8,72$; $p=0,005$), HF (соответственно: $488,57 \pm 79,16$ и $2380,67 \pm 1006,78$; $F=24,87$; $p=0,00001$), pLF (соответственно: $73,41 \pm 1,56$ и $60,00 \pm 2,00$; $F=4,69$; $p=0,035$), pHF (соответственно: $26,57 \pm 1,56$ и $40,00 \pm 2,00$; $F=4,69$; $p=0,035$), а также между студентками с высоким уровнем тревожности и умеренным уровнем тревожности: SDNN (соответственно: $0,044 \pm 0,003$ и $0,052 \pm 0,002$; $F=4,22$; $p=0,042$), AMo (соответственно: $49,72 \pm 2,49$ и $42,88 \pm 1,52$; $F=5,99$; $p=0,016$), ИH (соответственно: $183,92 \pm 24,05$ и $115,12 \pm 10,76$; $F=7,91$; $p=0,006$), LF (соответственно: $1177,09 \pm 167,59$ и $1555,97 \pm 167,03$; $F=4,93$; $p=0,030$), HF (соответственно: $2380,67 \pm 1006,78$ и $791,58 \pm 127,46$; $F=7,01$; $p=0,010$). Результаты корреляционного анализа связи между ЛТ и показателями BCP свидетельствуют об отсутствии выраженной связи в межсессионный период между этими показателями. В то же время, такая связь появляется при сравнительном анализе изучаемых показателей перед экзаменом: между ЛТ и SDNN ($R=-0,241$; $p=0,012$), MxDMn ($R=-0,202$; $p=0,036$), ИH ($R=0,212$; $p=0,028$), VLF ($R=-0,209$; $p=0,030$), LF ($R=-0,259$; $p=0,007$), HF ($R=-0,222$; $p=0,021$).

Таким образом, эти результаты свидетельствуют о значительном влиянии индивидуальной склонности к тревоге на функциональное состояние регуляции сердечного ритма в условиях психоэмоционального стресса.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант № 2.2.3.3/2028).

Экспрессия рецепторов пролактина при обструктивном холестазах и в начальный постхолестазный период у крыс с нормальным и повышенным уровнем пролактина

Сергеева М.И. (Москва, chtmashka@yandex.ru), Кушнарева Н.С.

Многие процессы в печени находятся под контролем пролактина. Печень характеризуется высоким уровнем экспрессии рецепторов пролактина. Известно, что для обструктивного холестаза характерно изменение экспрессии рецепторов пролактина в печени. Однако остается неизвестным вопрос, меняется ли их уровень в начальный постхолестазный период в различных типах клеток печени и как на это влияет изменение уровня пролактина. Ответ на этот вопрос поможет оценить участие пролактина и его рецепторов в регуляции переключения путей экскреции билирубина в этот период в гепатоцитах и холангиоцитах. Целью настоящей работы было изучить изменения манифестации рецепторов пролактина в гепатоцитах и холангиоцитах печени крыс в сочетании с изменениями структуры печени при обструктивном холестазах и его снятии на фоне нормального и повышенного уровня пролактина.

Обструктивный холестаз у крыс индуцировали перевязкой общего желчного протока в течение 14 дней. У части крыс через 14 дней после операции производили декомпрессию общего желчного протока, начальным постхолестазным периодом при этом считали момент через 3 часа после декомпрессии. Гиперпролактинемия вызывали трансплантацией гипофиза от половозрелой крысы под почечную капсулу экспериментального животного, проводимой в момент перевязки общего желчного протока или за 2 недели до нее. Для идентификации рецепторов пролактина использовали непрямой иммунопероксидазный метод, мышинные моноклональные антитела к рецепторам пролактина крыс.

Установлено, что в холангиоцитах повышенная экспрессия рецепторов пролактина, наблюдаемая при обструктивном холестазах, достоверно снижается через 3 часа после его

снятия. В гепатоцитах сходные изменения менее выражены. Гиперпролактинемия не влияет на рост экспрессии рецепторов пролактина в холангиоцитах при обструктивном холестазе и на их снижение после его снятия. Использованная модель гиперпролактинемии вызывает повышение экспрессии рецепторов пролактина в гепатоцитах всех исследованных групп животных. Индуцированная гиперпролактинемия в сочетании с высоким уровнем рецепторов пролактина в холангиоцитах и гепатоцитах вызывает при обструктивном холестазе дополнительные патологические изменения структуры печени, выражающиеся в увеличении количества и размеров желчных протоков, появлении элементов желудочно-кишечной метаплазии, а также в усилении воспаления и фиброза перипортальных зон печени.

Таким образом, перестройка экскреторной функции печени при снятии холестаза сопровождается снижением манифестации рецепторов пролактина в холангиоцитах и гепатоцитах, а гиперпролактинемия препятствует этому процессу в гепатоцитах, но не в холангиоцитах.

Исследование морфометрических параметров эритроидного ростка лягушек методом атомно-силовой микроскопии

Сладкова Е.А. (Белгород, serious2x@rambler.ru)

Широкое внедрение в практику экспериментальных исследований методов сканирующей зондовой микроскопии для изучения морфологии клеток крови, позволило получать трехмерные изображения, сведения об особенностях строения поверхностной цитомембраны, морфологически характеризовать различные формы эритроцитов, определять их процентное содержание и функциональные особенности. Проведенные исследования посвящены изучению морфометрических параметров бластных форм эритроидного ростка лягушек методом сканирующей зондовой микроскопии в периоды сезонной активации и затухания гемопоэза.

Исследования выполнены на базе кафедры биотехнологии, морфологии и физиологии живых организмов БелГУ. Объект исследования – костный мозг половозрелых особей лягушек *Rana ridibunda* Pall., отловленных из р. Везёлка в периоды вспышки и затухания гемопоэза. Препараты костного мозга готовили стандартными общепринятыми способами. Морфометрические параметры эритроидного звена изучали на препаратах костного мозга методом полуконтактной АСМ.

В результате проведенных экспериментов установлено увеличение линейных размеров клеток от проэритробласта к более зрелым формам. В период активации гемопоэза значения размеров эритробластов по длинной оси эллипса составили: проэритробласт – $15,9 \pm 0,3$ мкм; базофильный – $17,5 \pm 0,9$ мкм; полихроматофильный – $18,9 \pm 0,5$ мкм; оксифильный – $20,4 \pm 0,2$ мкм. Значения размеров эритробластов по минимальной оси были проэритробласт – $13,8 \pm 0,2$ мкм; базофильный – $10,6 \pm 0,6$ мкм; полихроматофильный – $10,6 \pm 0,4$ мкм; оксифильный – $15,1 \pm 0,2$ мкм. Размеры ядра эритробластов по мере созревания уменьшались. Значения длинного и короткого диаметров ядра соответственно составили для проэритробласта – $12,8 \pm 0,2$ и $11,1 \pm 0,2$ мкм; базофильного – $11,3 \pm 0,8$ и $7,6 \pm 0,3$ мкм; полихроматофильного – $10,7 \pm 0,6$ и $7,1 \pm 0,1$ мкм; оксифильного – $8,9 \pm 0,2$ и $6,8 \pm 0,6$ мкм. Методом полуконтактной АСМ измерена высота и объем оксифильных эритробластов, которые составили соответственно $1,594 \pm 0,1$ мкм и $452,19 \pm 0,8$ мкм³.

Описанная динамика прослеживается как в весенне-летний период, так и во время затухания гемопоэза. При сравнении морфометрических параметров эритробластов в различные сезонные периоды установлено увеличение размеров оксифильного эритробласта в осенний период по максимальной оси эллипса на 11,7%, по минимальной оси эллипса на 15,7% по сравнению с весенне-летней вспышкой гемопоэза. Не исключено, что в условиях подготовки организма лягушек к зимовке эритробласты

больших размеров имеют большую площадь «гемодинамики». Это является важным компенсаторным механизмом, обеспечивающим их адаптацию к пониженной температуре.

Действие ингаляции препарата «Апингалин» на некоторые показатели эритроцитов и ретикулоцитов крови крыс при отеке легких
Старателева Ю.А. (Нижний Новгород, sua13@mail.ru)

Установлено, что продукты пчеловодства обладают высоким лечебным действием при многих заболеваниях, в том числе при бронхо-легочных. Они оказывают широкий спектр физиологического действия на организм. В связи с этим целью работы явилось изучение действия ингаляции препарата «Апингалин» на некоторые показатели эритроцитов и ретикулоцитов крови крыс при отеке легких.

Исследования проводились на 30-ти белых крысах, самцах, массой 150-180 г. Животные были разделены на 3 группы. К первой группе относились интактные животные. Крысам второй группы воспроизводили адреналовый отек легких. Животным третьей группы моделировали отек легких, а затем в течение 10 дней их ингалировали препаратом «Апингалин». В крови определяли общее количество эритроцитов ретикулоцитов, содержание гемоглобина и скорость оседания эритроцитов (СОЭ).

На первом этапе исследования наблюдали изменения изучаемых показателей красной крови крыс при отеке легких. Было установлено, что через 10 дней после нанесения отека общее количество эритроцитов в крови крыс снизилось на 18%, содержание гемоглобина на 16% и количество ретикулоцитов на 53,2% по сравнению с группой «интактные животные». После моделирования отека легких у крыс произошли изменения и в функциональном состоянии эритроцитов: СОЭ увеличилась на 65,8% относительно интактной группы. По-видимому, данные изменения связаны с развитием стресс-реакции в организме животных. На втором этапе эксперимента нами было изучено терапевтическое действие препарата «Апингалин» на показатели эритроцитов и ретикулоцитов крови крыс на фоне адреналового отека легких. При этом общее количество эритроцитов увеличилось на 25% по сравнению с интактной группой и на 43% по отношению к группе животных с отеком, содержание гемоглобина в крови крыс повысилось на 24% по сравнению с группой интактных животных и на 40% по сравнению с отеком. Количество ретикулоцитов увеличилось на 12,8% относительно интактной группы и на 66% относительно животных с отеком легких. Полученный эффект может быть связан со способностью маточного молочка и прополиса стимулировать эритропоэз и синтез белков. Курсовая ингаляция «Апингалином» крыс с отеком легких привела к улучшению функционального состояния эритроцитов – СОЭ снизилась на 65,8% по отношению к группе животных с отеком и приблизилась к уровню интактных животных. Вероятно, данные изменения связаны с увеличением элетроотрицательности мембраны эритроцита, что может быть обусловлено адсорбцией на поверхности клетки компонентов продуктов пчеловодства, несущих более электроотрицательный заряд. Таким образом, курсовое ингаляционное введение крысам препарата «Апинагалин» на фоне адреналового отека легких привело к нормализации изучаемых показателей: увеличению содержания гемоглобина, количества эритроцитов и ретикулоцитов, а так же снижению СОЭ.

Влияние изотопа ^{25}Mg на двигательную активность сперматозоидов
Страшнова А.Л. (Москва, aglayakonkova@mail.ru)

Одним из фундаментальных свойств живых систем является накопление стабильных изотопов биогенных элементов, осуществляемое в результате процесса биологического фракционирования. Однако вплоть до настоящего времени остается неизвестным,

влияет ли на проявления жизнедеятельности замена или изменение концентрации стабильных изотопов в составе живой системы.

Мы исследовали влияние стабильного изотопа ^{25}Mg , введенного в инкубационную среду, на двигательную активность замороженных и оттаянных сперматозоидов быка. В качестве инкубационной среды использовался глюкозо-цитратный раствор (40 мМ цитрата натрия, 222 мМ глюкозы). Двигательная активность и выживаемость сперматозоидов определялась при помощи Анализатора изображений АТ-05 (ЗАО фирма «БМК-ИНВЕСТ»).

В типичном случае (контроль, глюкозо-цитратный раствор) двигательная активность и численность движущихся сперматозоидов убывает в соответствии с экспоненциальным законом, полностью угасая на протяжении 2,5-3 часов (время полу-жизни сперматозоидов 24,3 минуты). Добавление хлористой соли природного магния в количестве 1,1 мМ не изменяет ни характер, ни динамику двигательной активности и выживания сперматозоидов (время полу-жизни сперматозоидов 24,3 минуты). Добавление той же соли ^{25}Mg в том же количестве приводит к возрастанию крутизны экспоненциальной зависимости (время полу-жизни сперматозоидов 26,7 минут). Такое изменение динамики, вероятнее всего, связано с возрастанием средней скорости движения и концентрации подвижных форм сперматозоидов.

Таким образом, добавление стабильного изотопа ^{25}Mg во внешнюю среду активизирует движение сперматозоидов. Последнее хорошо согласуется с данными, полученными А.Л. Бучаченко с соавторами (2007), показавшими, что добавление ^{25}Mg к реакционной смеси, моделирующей последние этапы окислительного фосфорилирования, вдвое увеличивает выход АТФ. Возможно предположить, что ^{25}Mg подобным же образом активизирует деятельность магний-зависимой АТФ-азы сперматозоидов.

Клеточный состав паренхимы печени крыс при длительном воздействии топлива Т-1

Суворова М.А. (Алматы, Казахстан, maria_suvorova@list.ru)

Топлива на основе керосина применяются в воздушном и наземном военном транспорте, гражданской авиации и в паре с кислородом в ракетносителях типа «Союз» и «Молния». Химически топлива на основе керосина представляют собой сложную смесь органических соединений, где 19,5% составляют ароматические, 2,0% алкеновые, 45,0% циклановые и 33,5% алкановые углеводороды. Несмотря на то, что доказано пневмотоксическое, иммунотоксическое и нейротоксическое действие паров керосинового топлива на млекопитающих, эффекты его воздействия на печень практически не изучены.

В эксперименте были использованы белые беспородные половозрелые крысы, которые подвергались ингаляционному воздействию паров топлива Т-1 в дозе 6 мг/л в течение 1, 4, 8, 16 и 30 дней. На мазках изолированных гепатоцитов, окрашенных флуоресцентным реактивом типа Шифф-ауромин- SO_2 , цитофлуорометрически измеряли содержание ядерной ДНК. Полученные результаты обрабатывали общепринятыми статистическими методами, достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

По содержанию ДНК гепатоциты были распределены по классам плоидности с выделением двуядерных фракций. У интактных животных доля диплоидных (2с) одноядерных гепатоцитов составила около 6%, а двуядерных с двумя диплоидными ядрами – $2с \times 2$ – 15,1%. Наибольший процент (71,8%) составляют одноядерные тетраплоидные клетки, октаплоидные с двумя тетраплоидными ядрами ($4с \times 2$) – около 7%. Процент октаплоидных одноядерных клеток был очень незначительным, около 1%.

Изменения в процентном распределении клеток по классам плоидности начинаются с 4 суток и нарастают с увеличением продолжительности воздействия. Процент

диплоидных одноядерных и двуядерных клеток снижается к 16-м суткам в 2 и 1,5 раза ($P < 0,001$) и на 30-е сутки в 2,5 и 2 раза ($P < 0,01$), соответственно. Процент тетраплоидных одноядерных клеток остается практически неизменным, лишь к 30-м суткам наблюдается их снижение до 60% ($P < 0,001$ по сравнению с контролем). Сдвиг распределения происходит в сторону увеличения количества высокоплоидных $4c \times 2$ и $8c$ гепатоцитов, на 16 и 30 сутки появляются нехарактерные для нормы двуядерные октаплоидные $8c \times 2$ клетки (3 и 5% соответственно). Соответственно, с увеличением продолжительности воздействия парами топлива происходит и увеличение средней плоидности гепатоцитов. Последнее, а также появление высокоплоидных элементов как результат индукции пролиферации, свидетельствует развитию в паренхиме печени регенерационных процессов в ответ на непрерывную и усугубляющуюся гибель гепатоцитов при длительном воздействии ксенобиотиков. Образование двуядерных и одноядерных полиплоидных клеток есть результат незавершенных реституционных митозов, стимулом для усиления которых является, скорее всего, гибель значительной части гепатоцитов. Основными цитотоксическими компонентами топлив на основе керосина являются ароматические (бензены, нафталены, ксилены и др.) и некоторые алифатические углеводороды, в особенности продукты их метаболического окисления монооксигеназами гепатоцитов.

Таким образом, ингаляционное воздействие реактивного топлива Т-1 в течение 30 дней приводит к значительному изменению состава клеточной популяции паренхимы с увеличением средней плоидности и появлением высокоплоидных элементов.

Белок Orai-1 участвует в депо-зависимом входе ионов кальция в скелетных миотубулах

Суханова И.Ф. (Москва, Irina131280@yandex.ru), Сурков К.В.

Долгое время считалось, что в клетках скелетной мускулатуры вход Ca^{2+} в цитоплазму из внешней среды происходит через потенциалуправляемые кальциевые каналы L-типа, а высвобождение Ca^{2+} из ретикулума осуществляется через рианодин-чувствительные каналы. В последние годы выяснилось, что наряду с этим классическим механизмом в мышечных клетках наблюдается вход ионов кальция по депо-зависимому пути. Какие конкретно кальциевые каналы принимают участие в этих процессах, остается неясным. Белок Orai-1, представитель нового семейства кальциевых каналов, участвует в депо-зависимом входе кальция в электроневозбудимых клетках. Поэтому, целью настоящей работы было выяснение вопроса о возможном участии белка Orai-1 в транспорте ионов кальция в клетках скелетной мускулатуры.

Исследование проводили на клетках мышечных миобластов линии C2C12 и миобластах, выделенных из мышечной ткани мышей линии mdx. Дифференцировку миобластов в миотубулы запускали добавлением к среде роста 4% лошадиной сыворотки. Поскольку специфические фармакологические ингибиторы белка Orai-1 отсутствуют, нами синтезированы (при помощи набора фирмы Ambion) малые интерферирующие РНК (миРНК) и осуществлен подбор условий ингибирования синтеза белка Orai-1. Подбор последовательностей коротких РНК осуществляли при помощи интерактивного сервиса фирмы Dharmacon. Степень ингибирования синтеза белка отслеживали по изменению уровня мРНК белка Orai-1 при помощи количественной полимеразной цепной реакции.

Трансфекция миотубул siRNA, направленной против мРНК Orai1, приводила к уменьшению депо-зависимого входа $^{45}Ca^{2+}$ в эти клетки, индуцированного тапсигаргином, частично подавляла вход $^{45}Ca^{2+}$ в миотубулы в ответ на активацию пуринергических рецепторов с помощью АТФ, полностью устраняла вход $^{45}Ca^{2+}$, вызванный лизофосфатидилхолином и не влияла на транспорт ионов кальция через потенциалуправляемые каналы. В контрольные клетки вводили миРНК, со случайной последовательностью, некомплементарную матричной РНК мышцы.

Относительное изменение концентрации ионов кальция в цитоплазме регистрировали при помощи флуоресцентных кальциевых зондов Fura-2 и Fluo-4. Оказалось, что подавление экспрессии *Orai1* уменьшает скорость роста и максимальный подъем $[Ca^{2+}]_{цит}$ при действии тапсигаргина. Влияние этих миРНК на миотубулы снижает максимальный подъем $[Ca^{2+}]_{цит}$ при добавлении АТФ и увеличивает скорость следующего за ним спада, характерного для реакции клеток на действие АТФ.

Все вышеописанные эффекты при частичном подавлении уровня экспрессии белка *Orai-1* мы наблюдали через 24 часа после трансфекции. Более длительное воздействие миРНК против *Orai1* на миотубулы приводило к их гибели.

Таким образом, нами показано участие белка *Orai-1* в депо-зависимом входе ионов кальция в скелетные миотубулы. Кроме того, наличие этих каналов необходимо для сохранения клетками жизнеспособности.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-04-01466 и SCOPES №IB 74A0-110940.

Авторы выражают признательность профессору, д.б.н. П.В. Авдониной за помощь в подготовке тезисов.

О возможности перорального применения пчелиного яда при экспериментальном лучевом поражении

Таламанова М.Н. (Нижегород, manjatal@ya.ru)

Экстренная противолучевая терапевтическая помощь – наименее освоенная область радиационной биологии и медицины. С учетом того, что слабые раздражители могут вызывать благоприятные для организма реакции на фоне течения болезни, переводя его из стрессового состояния в другую более оптимальную неспецифическую реакцию (тренировка, активация), исследование адаптогенных свойств малых доз зоотоксинов на фоне предварительного облучения является весьма перспективным. Показано, что внутрибрюшинное введение малых доз пчелиного яда (ПЯ) оказывает терапевтический эффект в условиях моделирования лучевой болезни. Однако применение ПЯ в клинической практике затруднено высокой антигенной и аллергенной активностью яда. Белковая структура ПЯ делает невозможным его пероральное применение. Одним из перспективных вариантов решения этой проблемы является пероральное введение ПЯ в организм в составе нанокомпозигов на основе золота и хитозана.

Эксперимент проводили на белых нелинейных крысах-самцах $m=200-220г$ ($n=5$). Опытной группе вводили ПЯ в дозе $0,5$ мг/кг в составе наночастиц золота ($0,5$ мг/кг) и хитозана (100 мг/кг), контрольной группе – раствор наночастиц золота и хитозана. Группе «контроль на облучение» нанокомпозигов не вводились. За относительную норму принимались показатели интактных животных. Животные контрольных и опытной групп подвергались общему однократному гамма-облучению в дозе 5 Гр (костномозговая форма лучевой болезни средней степени тяжести). Терапию проводили в течение 7 суток, начиная лечение через 2 часа после облучения. Все препараты вводили в объеме 1 мл на животное перорально с помощью зонда периодичностью 1 раз в сутки. На 1 -е, 14 и 28 -е сутки после окончания терапии в крови определяли количество лейкоцитов и лейкоцитарный коэффициент (ЛК), который свидетельствует о развитии того или иного состояния организма (норма, стресс, активация и др.).

В ходе эксперимента наблюдалось резкое снижение количества лейкоцитов во всех группах по отношению к интактным животным на 1 сутки после окончания терапии ($p \leq 0,05$) и восстановление их содержания до уровня интактных к 28 суткам ($p \geq 0,05$). Полученные результаты показателей периферической крови не выявили выраженного терапевтического эффекта ПЯ в составе нанокомпозигов. Поэтому был произведен расчет дополнительного показателя – ЛК, являющегося индикатором физиологического состояния организма. У животных, которым после облучения вводили ПЯ в составе наночастиц золота, значение ЛК было выше показателей контрольных животных в

течение всех 4 недель ($p \leq 0,05$) и к 28 суткам значение данного показателя достигало уровня интактных животных, что свидетельствовало о переводе организма из состояния стресса в физиологическое состояние относительной нормы.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о выявлении терапевтического (адаптогенного) эффекта при пероральном применении пчелиного яда в условиях лучевой болезни, что открывает новые перспективы в применении зоотоксинов пчелы в клинической практике.

Исследование постродовых изменений поведения самок белых крыс на модели гормональной имитации беременности (введение прогестерона и эстрадиола)

Танаева К.К. (Москва, ksetan@mail.ru), Добрякова Ю.В.

Как известно, около 15% кормящих матерей страдают так называемой послеродовой депрессией (postpartum depression, PPD), а также могут испытывать состояния повышенной тревожности, озабоченности, страха. Некоторые авторы предполагают, что одной из причин развития PPD является резкое падение уровня целого ряда гормонов сразу после родов. В связи с этим в нашей работе было проведено изучение параметров материнского поведения, а также тревожности, исследовательской активности и депрессивности у овариэктомированных самок беспородных белых крыс, прошедших курс гормональной имитации беременности.

Введение овариэктомированным самкам гормонов эстрадиола и прогестерона (именно их уровень значительно возрастает во время беременности) производилось ежедневно в течение 22 дней «беременности» (группа 1). С 1 по 16 дни инъецировались эстрадиол (2,5 мкг/животное) и прогестерон (4 мг/животное); с 17 по 22 дни – только эстрадиол (50 мкг/животное); препараты вводились подкожно в растворе масла. Некоторым самкам эстрадиол (50 мкг/животное) продолжали вводить с 23 по 29 дни опыта (группа 2). Контрольные овариэктомированные, нормально рожавшие и интактные самки (группы 3-5) получали эквивалентные объемы растворителя (кунжутное масло). Регистрация материнского поведения осуществлялась при красном и ярком свете на арене «открытого поля» раз в сутки с 26 по 28 дни эксперимента (в центр арены помещали чашку Петри с тремя детенышами). С 23 по 25 дни опыта нерожавших самок предварительно сенситизировали – ссаживали с донорскими детенышами в условиях домашней клетки в течение часа ежедневно. Двигательная и исследовательская активность самок (в «открытом поле» без детенышей), уровень их тревожности («крестообразный приподнятый лабиринт») и депрессивности (тест «принудительное плавание») оценивались нами до овариэктомии (базовый уровень), после окончания введения гормонов (24 и 25 дни опыта) и после оценки параметров материнского поведения.

Полученные результаты показали, что в условиях яркой освещенности у самок группы 2 наблюдается тенденция к снижению латентного периода первого подхода к детенышам и увеличению общего количества подходов к ним. Кроме того, ложнобеременные самки (группа 1) демонстрируют более длительные периоды нависания над крысятами (поза кормления) по сравнению с оперированным контролем (группа 3).

Анализ двигательной активности и тревожности показал, что в крестообразном приподнятом лабиринте ложнобеременные самки проводят больше времени на светлых рукавах лабиринта по сравнению с остальными группами, что в целом свидетельствует о сниженном уровне тревожности. Кроме того, самки группы 1 продемонстрировали более высокий уровень исследовательской активности при помещении в «открытое поле» без детенышей (повышены пробег, число отходов от стенки арены и выходов в ее центр).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что апробированная нами модель гормональной имитации беременности может использоваться для оценки

«постродовых» изменений материнского поведения и тревожности, в том числе при анализе нейрохимических механизмов наблюдаемых изменений (оценка вклада опиоидной системы, дофаминергической системы и др.).

Участие Rho-киназы в адренергических прессорных ответах на метоксамин у хронически десимпатизированных крыс

Тарасова Н.В. (Москва, compasstar@gmail.com)

Симпатическая нервная система играет важную роль в регуляции тонуса сосудов и уровня артериального давления (АД). Одним из механизмов, участвующих в передаче сигнала от активируемых норадреналином рецепторов наружной мембраны, является активация Rho-киназы, которая приводит к ингибированию фосфатазы легких цепей миозина и усилению сокращения гладкой мышцы сосудов. В онтогенезе происходит снижение роли Rho-киназы в поддержании тонуса сосудов; это совпадает во времени с созреванием симпатической нервной системы. Целью данной работы было оценить вклад Rho-киназы в поддержание тонуса сосудов и АД у взрослых крыс, лишенных симпатической иннервации.

Хроническую десимпатизацию проводили при помощи введения гуанетидина. Гуанетидин вводили 6 раз в неделю подкожно в межлопаточную область: с 1-ого по 14-й день в дозе 25мг/кг, с 15-го по 42-й день – 50мг/кг в объеме 1-2,5 мкл/г массы тела. Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор в том же объеме. В возрасте 7-8 недель проводили регистрацию АД у бодрствующих свободно передвигающихся крыс. АД регистрировали через катетер в бедренной артерии, вещества вводили через катетер в бедренной вене. Для выяснения роли Rho-киназы исследовали влияние ее селективного ингибитора, фасудила (Фас, 3 мг/кг), на повышение АД при введении агониста α_1 -адренорецепторов метоксамина (Мет, болюсное введение 100 мкг/кг или инфузия 200 мкг/кг в течение 80 сек).

Масса тела у десимпатизированных крыс была меньше, чем у контрольных животных. Уровень среднего АД при десимпатизации также был ниже, чем в контроле ($96,4 \pm 2,5$ и $105,1 \pm 1,9$ мм рт. ст., соответственно). Симпатический компонент АД оценивали по снижению АД при введении ганглиоблокатора хлоризондамина (ХЛ, 2,5 мг/кг). У крыс контрольной группы снижение среднего АД составляло 33%, а в группе с десимпатизацией среднее АД не изменялось. Кроме того, у десимпатизированных крыс на спектре среднего АД отсутствовал пик в области 0,4 Гц (т.н. волны Майера), отражающий барорефлекторные колебания симпатической активности. Эти данные свидетельствуют об эффективности использованной нами схемы десимпатизации.

Селективный ингибитор Rho-киназы Фас снижал уровень АД как у контрольных, так и у десимпатизированных крыс, однако у десимпатизированных крыс снижение АД было более значительным (35%), чем у контрольных (17%).

Ответ на болюсное введение Мет в присутствии рефлекторного контроля гемодинамики под действием Фас не изменялся. При инфузии Мет ингибитор Rho-киназы Фас снижал амплитуду ответа у десимпатизированных крыс на 10%, в то время как у контрольной группы амплитуда ответа оставалась без изменений. На фоне ганглиоблокады влияние Фас на прессорный ответ при инфузии Мет у десимпатизированных крыс было более выраженным: ответ за 3 мин от начала введения Мет снизился у десимпатизированных крыс вдвое, а у контрольной группы остался без изменений.

Таким образом, активация Rho-киназы является важным механизмом, обеспечивающим сокращение сосудов в ответ на стимуляцию α_1 -адренорецепторов у крыс в отсутствие симпатической иннервации.

Работа поддержана РФФИ (грант № 07-04-01527).

Сократительные свойства трехглавой мышцы голени крысы в условиях моделируемой гравитационной разгрузки
Терентьева А.В. (Казань, terenteva_a@mail.ru)

Опорная разгрузка задних конечностей приводит к целому ряду нервно-мышечных нарушений, среди которых описана реорганизация двигательных единиц, уменьшение периферической афферентации, снижение сократительных свойств и выносливости мышечного аппарата, а также изменение структуры скелетных мышц. В наибольшей степени изменения наблюдаются в камбаловидной мышце, содержащей до 85% медленных волокон. Мышца теряет тонус, жёсткость и упругость, становится мягкой, податливой, рыхлой, усиливается интенсивность синтеза изоформ миозина быстрого типа и снижается экспрессия медленного миозина. Целью настоящей работы являлась оценка функциональной активности *m. soleus* и *m. gastrocnemius* в условиях моделирующей гравитационную разгрузку.

Исследование проводили 30 лабораторных крысах линии Wistar массой 130-150 г. Опытные условия создавали вывешиванием животных за хвост по методике Morgey-Holton et al. (2002). Через 1, 3, 5, 7, 14 суток воздействия микрогравитации методами стимуляционной миографии оценивали электромиографические характеристики *m. soleus* и *m. gastrocnemius*. Для исследования состояния периферической части нервно-мышечного аппарата регистрировали М-ответ и электрический ответ мышцы при ее прямом раздражении. Определяли максимальную амплитуду и порог возникновения потенциалов. Перед снятием показателей животным под общим эфирным наркозом производили спинализацию между 2 и 3 грудными позвонками. Опыт начинали через 2 часа после спинализации. С помощью игольчатых электродов регистрировали электрические ответы мышц, вызванные раздражением седалищного нерва одиночными прямоугольными импульсами длительностью 0,5 мс с частотой 0,5 имп/мин. Контрольной служила группа интактных животных. В условиях моделирования гравитационной разгрузки наблюдали изменения параметров регистрируемых электрических потенциалов *m. soleus* и *m. gastrocnemius*.

Амплитуда моторного ответа *m. soleus* крысы уже на первые сутки опорной разгрузки снижалась примерно вдвое по сравнению со значениями, зарегистрированными у интактных животных. Максимальное снижение амплитуды М-ответа наблюдалось на 7 сутки. К 14 суткам амплитуда моторного ответа начинает восстанавливаться, но не достигает контрольных значений. В изменениях амплитуды мышечного ответа при ее прямой стимуляции наблюдается схожая динамика: максимальное снижение амплитуды происходит к 7 суткам, но снижение постепенное. К 14 суткам амплитуда максимального прямого ответа даже увеличивалась.

Максимальная амплитуда М-ответа *m. gastrocnemius* на первые сутки увеличивалась, затем уменьшалась, но снижение амплитуды моторного ответа незначительное по сравнению с изменениями, происходящими в *m. soleus*. Амплитуда прямого мышечного ответа уже с первых суток возрастала и к 7 суткам вывешивания увеличилась в два раза по сравнению с контрольными значениями. К 14 суткам амплитуда начинает восстанавливаться, но не достигает контрольных значений.

Полученные нами результаты показали, что изменениям в условиях моделируемой гравитационной разгрузки более подвержена *m. soleus* чем *m. gastrocnemius*. Изменения параметров электрических ответов свидетельствуют об изменении сократительных свойств мышцы. Показано, например, что снижение жесткости мышечных волокон, выделенных из *m. soleus* крысы после её пребывания в условиях опорной разгрузки сопровождается уменьшением относительного содержания тайтина (цитоскелетного белка поперечно-полосатых мышц позвоночных). Деструкция цитоскелетных белков при имитации действия невесомости может драматически сказаться на сократительной функции мышц.

Морфологические характеристики и особенности питания детей 9-10-летнего возраста, занимающихся плаванием

Тогулева А. Г. (Кемерово, anna-tog@mail.ru)

Наблюдение за изменением морфологических характеристик детей при систематических занятиях спортом является необходимым элементом медико-биологического сопровождения тренировочного процесса, позволяющим судить об адекватности физических нагрузок. В свою очередь, обеспечить дополнительную потребность организма в энергетических, пластических и регуляторных веществах, необходимых для гармоничного развития и повышения резервных возможностей организма ребенка, может рациональное питание.

С целью изучения особенностей морфологического статуса юных пловцов была проведена оценка антропометрических характеристик у учащихся СДЮСШОР по плаванию в возрасте 9-10 лет, занимающихся в спортивной школе не менее 4 лет (n=30). В контрольную группу вошли дети того же возраста, не занимающиеся спортом (n=40).

Изучение особенностей питания проводилось с помощью опросников, которые включали вопросы, позволяющие оценить режим питания; уровень физической активности и соотношение основных компонентов пищи.

Результаты сравнительного анализа соматометрических характеристик в исследуемых группах показали, что спортсмены отличаются от сверстников более высокими значениями обхватных размеров. Так, выявлены достоверно высокие значения показателей обхвата голени (ОГ=30,29±0,45 см), обхвата плеча (ОП=21,90±0,46 см) у детей, обучающихся в спортивной школе по плаванию, по сравнению с не занимающимися спортом сверстниками, аналогичные показатели которых составили ОГ=28,18±0,5 см и ОП=20,33±0,36 см соответственно. Пловцы отличались достоверно низкими значениями показателей кожно-жировых складок в семи точках измерения из восьми от своих сверстников: под лопаткой 5,88±0,23 мм и 9,47±0,64 мм, p<0,0007; на плече спереди 5,3±0,44 мм и 7,95±0,47 мм, p<0,001; на плече сзади 8,91±0,54 мм и 11,13±0,48 мм, p<0,01; на предплечье 4,35±0,27 мм и 6,44±0,39 мм, p<0,02; в области груди 4,79±0,48 мм и 7,16±0,68 мм, p<0,01; в области живота 6,2±0,53 мм и 10,67±0,58 мм, p<0,001 и на задней поверхности голени 6,07±0,44 мм и 10,3±0,38 мм, p<0,001, соответственно. Поперечные размеры: двувертельный диаметр (ДВ=24,04±0,36 см), диаметр запястья (ДЗ=4,15±0,15 см) и лодыжки (ДЛ=5,45±0,7 см), детей – не спортсменов, были достоверно ниже, чем у учащихся СДЮСШОР по плаванию, данные характеристики которых имели более высокие значения: ДВ=25,28±0,3 см; ДЗ=4,3±0,16; ДЛ=5,78±0,85 см. Полученные результаты свидетельствуют, что занятия спортивным плаванием уже к 9-10-летнему возрасту приводят к изменению компонентного состава массы тела в сторону увеличения костного и мышечного компонентов и снижению жирового компонента.

При оценке соотношения основных компонентов пищи в рационе питания обследуемого контингента было установлено, что в недельном рационе юных пловцов чаще встречались продукты, содержащие незаменимые аминокислоты, необходимые для синтеза белков человеческого организма (мясные и молочные продукты, рыба), чем у детей, не занимающихся спортом.

Результаты нашего исследования позволили установить, что интенсивные физические нагрузки предполагают увеличение белковой пищи в рационе питания детей – спортсменов и как следствие прироста мышечной массы тела, тогда как в отсутствии или при недостатке физической активности и повышенном употреблении углеводной пищи, отмечается увеличение жирового компонента массы тела.

Влияние природного тетрапептида эндоморфина-2 на поведение детенышей белых крыс при системном введении

Троянова Н.И. (Москва, natywa@list.ru), Малышев А.В.

Эндоморфин-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) и эндоморфин-2 (Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂) – эндогенные пептиды, для которых показано высокоаффинное связывание с μ -опиоидными рецепторами и способность вызывать изменения поведения экспериментальных животных. При центральном введении выявлено антидепрессантное и анальгетическое действие эндоморфинов, однако их влияние на поведение при системном применении не изучено. По данным литературы при внутрижелудочковом введении в количестве 0,25-1 мкг эндоморфин-2 усиливает двигательную активность, а в количестве 17,5 мкг – ухудшает обучаемость в ходе выработки условной реакции пассивного избегания.

Целью представленной работы явилась оценка возможных последствий однократного внутрибрюшинного введения тетрапептида эндоморфина-2 на поведение белых крыс в тестах «открытое поле со сменой освещенности» и «челночная камера» (оценка двигательной и исследовательской активности, а также тревожности). Эксперименты проводились на детенышах в возрасте от 21 до 49 дней. Эндоморфин-2 вводился за 20 мин до тестирования в дозе 5 мг/кг (пептид растворяли в 3,3%-ном этиловом спирте). В «открытом поле со сменой освещенности» тестирование проводилось в течение 9 минут. Смена условий освещения производилась после 3-й мин с яркого света на красный и после 6-й мин – с красного на яркий. Эксперименты проводили на 21, 28 и 42 дни жизни животных. Влияние пептида на уровень тревожности изучалось с помощью теста «челночная камера» на 49-й день жизни (длительность наблюдений составила 3 мин).

В опытах, проводимых на 21 и 28 дни, достоверных изменений поведения под влиянием эндоморфина-2 выявлено не было, что может быть связано с относительной незрелостью опиоидной системы мозга лабораторных крыс. По литературным данным, окончательное формирование ее рецепторной составляющей происходит к 35 дню постнатального развития. При тестировании в «челночной камере» обнаружено значимое уменьшение суммарного количества стоек в светлом и темном отсеках камеры у опытных животных по сравнению с контрольными ($p < 0,05$). Это свидетельствует о более высоком уровне тревожности крыс, получивших инъекцию эндоморфина-2. В «открытом поле» (возраст 42 дня) было выявлено усиление двигательной и исследовательской активности на 7-9 мин у опытных крыс по сравнению с контролем: зарегистрировано достоверное увеличение числа пройденных секторов, количества стоек и отходов от стенок арены ($p < 0,01-0,05$). Наиболее стабильные изменения отмечены в случае вертикальной активности (однако на 1-3 и 4-6 мин тестирования они не достигли значимого уровня). Отсутствие спада двигательной активности на последних минутах может являться выражением пассивного оборонительного поведения и, таким образом, служить показателем повышенной тревожности опытных животных. В пользу этого заключения говорит наличие достоверной отрицательной корреляции ($p < 0,05$) между числом стоек в 7-9 мин нахождения в «открытом поле» и числом стоек в «челночной камере».

Таким образом, можно заключить, что исследованный в данной работе тетрапептид эндоморфин-2 оказывает определенное анксиогенное влияние на поведение детенышей белых крыс, начиная с пятой декады жизни. Действие эндоморфина-2 сходно с активностью изученного ранее опиоидного фрагмента цитохрома b цитохрофина-4 (Tyr-Pro-Phe-Thr), также вызывающего повышение тревожности у крыс.

Методика выявления нестационарных элементов в медико-биологических сигналах: алгоритм и физиологические интерпретации

Туровский Я.А. (Воронеж, yaroslav_turovsk@mail.ru)

Одним из перспективных направлений исследования физиологических процессов является анализ т.н. нестационарных элементов биологических и медицинских сигналов. С 1998 года в ходе совместной работы сотрудников Воронежского государственного университета и Воронежской государственной медицинской академии было разработано несколько вариантов алгоритмов обработки ЭЭГ, ЭКГ (в т.ч. и высокого разрешения), ЭОГ, ЭМГ, variability сердечного ритма (ВСР), лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), эпидемических показателей и т.д. Объектами с которых регистрировались сигналы были плоды человека в гестационном возрасте 34-40 недель как в норме, так и при хронической внутриутробной гипоксии и фетоплацентарной недостаточности (120 наблюдений, исследовалась variability сердечного ритма регистрируемая методом кардиографии), новорожденные (105 наблюдений, родоразрешение через естественные родовые пути и кесаревым сечением, регистрация RR-интервалограмм и ЛДФ), дети различных возрастных групп (210 наблюдений, регистрация RR-интервалограмм как в норме, так и при ВСД, ИЗСД), взрослые в возрасте до 55 лет (290 наблюдений из них 210 – студенты, как условно здоровые, так и с ИБС, аритмиями различного происхождения, геморрагическими инсультами, исследовались ВСР, ЛДФ, ЭМГ, ЭЭГ, ЭОГ), отдельную группу составляли беременные (60 наблюдений, как с нормальным протеканием беременности так и с гестозом II половины беременности). Анализировались эпидемические показатели по заболеваемости рядом инфекций верхних дыхательных путей, микрофлоре кишечника при полостных операциях, динамика обращений больных за медицинской помощью.

Как известно, один из стандартных подходов в анализе кривых, к примеру, ВСР, ЭЭГ или ЛДФ заключается в спектральном анализе с последующим расчетом показателей спектральной плотности мощности в четко обозначенных частотных диапазонах. Между тем наблюдаемая на спектрах данных сигналов картина распределения локальных максимумов и минимумов может весьма сильно отличаться от классического деления на спектральные диапазоны. Действительно, если интерпретировать пики на спектрах как наиболее выраженные частотные компоненты сигнала, связанные с теми или иными физиологическими системами, то границы в частотном пространстве между этими системами должны пролегать по локальным минимумам спектра. Между тем это, при делении на классические частотные диапазоны это условие не всегда выполняется, что приводит к искаженным результатам исследования. Для устранения подобных недостатков нами был разработан набор алгоритмов для анализа перечисленных выше групп сигналов. Самым простым вариантом является анализ исходя из результатов широко применяемого преобразования Фурье (включая его оконный вариант), однако для оценки динамических и нестационарных процессов мы рекомендуем применять непрерывное вейвлет-преобразование. В результате после расчета набора локальных спектров строятся частотные диапазоны отражающие динамику переходных процессов, как в покое, так и при различных функциональных пробах. Выделение физиологически значимых диапазонов между локальными минимумами позволяют выявить даже малые по амплитуде ритмические активности на различных этапах онтогенеза, в норме и патологии, как в покое, так и при переходных процессах, что качественным образом повышает информативность и точность способа оценки сигналов. По результатам разработанных методик получен ряд патентов. Предложенные алгоритмы показали свою высокую прогностическую и диагностическую информативность как применительно к здоровому организму, так и применительно к патологическим процессам различной

этиологии. Выявлен ряд физиологических феноменов, ЭЭГ, ВСР, ЛДФ и ряда других временных рядов которые требуют более детального исследования.

Изучение связи между индексом массы тела и гемодинамическими показателями у студенток

Федотова Е.Н., Санёрова Е.В. (Чебоксары, kafedra-anatomii@mail.ru)

Многочисленные исследования указывают на значительное влияние уровня физического развития на показатели функционирования сердечно-сосудистой системы. В то же время, литературные данные о связи между индексом массы тела (ИМТ) и гемодинамическими показателями достаточно противоречивы. Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение связи между ИМТ и гемодинамическими показателями в межсессионный период и перед экзаменом.

Нами была проведена регистрация гемодинамических показателей неинвазивным аускультативным методом с помощью автоматического тонометра ВР ЗВТО – А. Регистрация ЧСС проводилась с использованием программно-аппаратного комплекса ORTO Expert согласно рекомендациям Европейской Ассоциации Кардиологии. Было обследовано 237 здоровых студенток 3-5 курсов в возрасте 20-25 лет. Обследование осуществлялось в межсессионный период и непосредственно перед экзаменом. Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистического пакета “Statistica 6.0” с применением критерия знаков (Z) и коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты корреляционного анализа, позволили установить наличие достоверных положительных связей между ИМТ и значениями показателей САД ($R=0,288$; $p=0,001$) и ПД ($R=0,340$; $p=0,0002$) в межсессионный период. Для более подробного изучения влияния ИМТ на гемодинамические показатели, все обследованные студентки были поделены на группы, образованные на основе значений нижней, верхней квартилей и медианы индекса массы тела (I квартиль – ИМТ ниже $19,49 \text{ кг/м}^2$; II квартиль – ИМТ от $19,50$ до $20,86 \text{ кг/м}^2$, III квартиль – ИМТ от $20,86$ до $22,55 \text{ кг/м}^2$, IV квартиль – ИМТ более $22,55 \text{ кг/м}^2$). Сравнительный анализ значений САД в разных квартильных интервалах показал, что по мере увеличения ИМТ, происходит увеличение значения значений САД. Достоверные отличия значений САД были обнаружены между I и IV ($Z=3,19$; $p=0,001$), а также II и IV группами студенток ($Z=2,63$; $p=0,009$). Достоверные отличия значений ПД обнаружены между I и IV ($Z=3,98$; $p=0,0001$), II и IV ($Z=3,37$; $p=0,0008$), III и IV ($Z=3,39$; $p=0,0007$) группами студенток. Анализ значений показателей функционирования ССС в группах с нормальным, низким и высоким ИМТ, показал наличие тенденция к более низким значениям ЧСС у группы студенток с высоким ИМТ ($R=-0,171$; $p=0,071$). Изучение различий значений показателей функционирования сердечно-сосудистой системы перед экзаменом позволило обнаружить, что студентки с высоким ИМТ по сравнению с теми, кто имел нормальный ИМТ, характеризуются относительно меньшими значениями ЧСС ($Z=-2,86$; $p=0,004$), ВИК ($Z=-2,77$; $p=0,006$) и большими значениями: САД ($Z=2,08$; $p=0,038$), ПД ($Z=2,21$; $p=0,027$). Студентки с низким ИМТ по сравнению с теми, кто имел высокие значения ИМТ имели относительно меньшие значения: САД ($Z=2,39$; $p=0,017$), ПД ($Z=2,47$; $p=0,014$) и большие значения ВИК ($Z=-2,39$; $p=0,017$).

Таким образом, результаты наших исследований указывают на значительное влияние антропометрических показателей студенток на функционирование системы кардиорегуляции в межсессионный период и перед экзаменом и подтверждают сложившееся в литературе представление об увеличении значений показателей САД и ПД по мере возрастания ИМТ.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант № 2.2.3.3/2028).

Изучение параметров биоэлектрической активности в сердце пескожила *Arenicola marina*

Хиразова Е.Э., Пызгарева А.В., Абрамочкин Д.В. (Москва, flamentance@mail.ru)

В ходе эволюции сердце впервые появляется у кольчатых червей (*Annelida*). Оно представляет собой полый однокамерный орган, стенка которого состоит из 1-2 слоев миоэпителиальных клеток. Физиология такого сердца, в частности характеристики биоэлектрической активности, практически не исследована. Одним из наиболее удобных объектов для изучения сердца аннелид является морская полихета пескожил (*Arenicola marina*). В данном исследовании, проведенном на базе Беломорской Биологической Станции МГУ, мы с помощью стандартной микроэлектродной методики изучили конфигурацию потенциала действия (ПД) в изолированном сердце пескожила и изменения электрической активности под действием ацетилхолина (АХ) и адреналина (АДР).

Электрическая активность в клетках сердца пескожила по конфигурации сходна с таковой в пейсмекере сердца позвоночных животных. Стабильный потенциал покоя отсутствует, наблюдается четко выраженная медленная диастолическая деполяризация, которая в зависимости от места регистрации активности может плавно или же резко переходить в передний фронт ПД. ПД имеет амплитуду не более 30 мВ, овершут отсутствует. АХ в концентрациях 50 μ М вызывал резкое ускорение ритма. Уменьшение длительности цикла составляло в среднем 54,3 \pm 16,2% (n=5) от исходной длительности (p<0,05). АХ вызывал также уменьшение длительности ПД, которое составило 18,6 \pm 5,2% от исходной длительности на уровне 50% реполяризации и 15,3 \pm 4,1% на уровне 90%. Напротив, АДР в концентрации 500 нМ вызывал замедление ритма сердца вплоть до полной остановки. Остановка достигалась через 4-7 циклов после начала перфузии раствором АДР. Кроме того, наблюдалось выраженное уменьшение длительности ПД: в среднем – на 43,8 \pm 7,5% от исходной длительности на уровне 50% реполяризации и 41,7 \pm 7,9% на уровне 90% реполяризации. Таким образом, мы показали, что в сердце пескожила АХ и АДР вызывают эффекты, прямо противоположные их действию на миокард позвоночных. Среди беспозвоночных этот случай также является уникальным, поэтому механизмы подобного «аномального» действия АХ и АДР заслуживают дальнейшего исследования.

Исследование адаптогенного действия нетоксичных доз пчелиного яда при однократном ингаляционном введении

Чечёткина У.Е. (Нижегород, ulyana.85@mail.ru)

В настоящее время несомненный интерес в изыскании научно обоснованных способов и фармакологических средств, повышающих устойчивость организма человека и животных к стрессовым ситуациям, вызывают яды природного происхождения, в том числе яд пчелы медоносной. В связи с этим целью работы явилось сравнительное исследование адаптогенного действия нетоксичных доз пчелиного яда (0,01 и 0,1% растворов) при однократном ингаляционном введении в условиях относительной нормы.

Эксперименты выполнялись на нелинейных белых крысах массой 150-180 г. Ингаляцию проводили в течение 10 минут. Состояние адаптации оценивали по Л.Х. Гаркави. Тип адаптационной реакции устанавливали по процентному содержанию лимфоцитов в лейкоцитарной формуле и лейкоцитарному коэффициенту. Также в работе проводили определение общего количества лейкоцитов, общего количества эритроцитов и содержания гемоглобина по стандартным методикам.

После ингаляции 0,01% раствором пчелиного яда отмечалось увеличение лейкоцитарного коэффициента и относительного количества лимфоцитов на 190 и 39%,

соответственно, по сравнению с интактными животными. Относительное количество сегментоядерных нейтрофилов снизилось в 2 раза, по сравнению с интактной группой. Ингаляция 0,1% раствором пчелиного яда привела к увеличению лейкоцитарного коэффициента в 2 раза по сравнению с интактными животными. Относительное количество лимфоцитов увеличилось на 33%, а сегментоядерных нейтрофилов снизилось на 38% по сравнению с интактной группой. Такое соотношение форменных элементов крови характеризует реакцию первичной активации, при которой происходит быстрый подъем защитных и регуляторных систем организма.

У крыс, которых ингалировали 0,01% раствором пчелиного яда, увеличилось общее количество лейкоцитов, общее количество эритроцитов и содержание гемоглобина (на 29, 18 и 27%, соответственно), по сравнению с интактными животными. При ингаляции 0,1% раствором яда общее количество лейкоцитов, общее количество эритроцитов и содержание гемоглобина увеличилось ещё больше – на 37, 47 и 84%, соответственно, по сравнению с интактной группой. Следовательно, ингаляционное введение токсина и в концентрации 0,01%, и в концентрации 0,1% оказывает стимулирующее действие на процессы кроветворения. Однако, большее увеличение содержания эритроцитов и гемоглобина в крови при ингаляции 0,1% раствором яда, возможно, говорит о развитии гипоксии в организме крыс под действием более высокой дозы токсина. Таким образом, для формирования адаптационных реакций организма, по-видимому, целесообразнее использовать пчелиный яд в концентрации 0,01%.

Изучение экспрессии маркеров иммунной супрессии TGF- β 1, CD25 и FOXP3 в лимфоцитах крови онкологических больных

Чуров А.В. (Петрозаводск, achurov@yandex.ru)

Процесс формирования иммунной супрессии при опухолевом росте является одной из наиболее актуальных проблем современной иммунологии. Одним из механизмов супрессии в онкогенезе считается усиление функциональной активности регуляторных CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов (Treg) и секреция этими клетками цитокинов, ингибирующих функции эффекторов иммунного ответа. Основным цитокином-ингибитором Treg-клеток является трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF- β 1). TGF- β 1 может оказывать стимулирующее действие на дифференцировку Treg-клеток и индуцировать экспрессию транскрипционного фактора FOXP3 (forkhead box P3). В настоящее время FOXP3 является наиболее специфичным маркером популяции CD4⁺CD25⁺ Treg-клеток. Целью исследования было изучение функциональной активности Treg-клеток у онкологических больных на основе комбинированного анализа экспрессии TGF- β 1, CD25 и FOXP3 в лимфоцитах периферической крови.

Материалом исследования служили пробы периферической крови 21 онкологического больного (среди них 10 больных колоректальным раком, 11 больных раком легкого) и 12 здоровых лиц в качестве контроля. Фенотипирование лимфоцитов проводили с использованием моноклональных антител к CD4 и CD25, меченных FITC («Сорбент», Москва). Лимфоциты для фенотипирования выделяли из крови центрифугированием на градиенте фиколл-верографин (плотность 1,077). Число клеток, на поверхности которых был экспрессирован тот или иной маркер, выражали в процентах к общему числу лимфоцитов. Уровень экспрессии мРНК генов TGF- β 1 и FOXP3 определяли методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Суммарную РНК лимфоцитов выделяли из цельной крови с использованием набора реагентов «YellowSolve» («Клоноген», Спб). Процедуру обратной транскрипции проводили с использованием случайных гексапраймеров и MMLV-обратной транскриптазы («Силекс», Москва). В качестве референсного гена использовали GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase). Уровень экспрессии исследуемых генов рассчитывали относительно контроля, принимая величину экспрессии гена в контроле за единицу.

Исследование показало, что у онкологических больных процентное соотношение числа CD25⁺ Т-клеток почти вдвое выше по сравнению с контролем (31,6±1,7 и 17,9±1,0 соответственно; P<0,05). При анализе экспрессии TGF-β1 было выявлено, что у онкологических больных количество мРНК TGF-β1 достоверно выше по сравнению с контролем (1,28±0,03 и 1,00±0,08 соответственно; P<0,05). При этом относительный уровень экспрессии мРНК TGF-β1 в группе больных раком легкого оказался выше (1,34±0,04; P<0,05), чем в группе больных колоректальным раком (1,21±0,05; P<0,05). Полученные данные об уровне экспрессии гена FOXP3 свидетельствуют о том, что у онкологических больных экспрессия FOXP3 значительно усиливается по сравнению с контролем. При этом, уровень мРНК FOXP3 у больных раком легкого (1,66±0,13) оказался существенно выше, чем у больных колоректальным раком (1,22±0,10) (P<0,05). Таким образом, результаты исследования показали, что у онкологических больных наблюдается значительное усиление экспрессии гена транскрипционного фактора FOXP3 и TGF-β1, что свидетельствует об активации Treg-клеток с фенотипом CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺.

Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных в рамках Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» и проекта РФФИ «Север» № 08-04-98838.

Исследование действия перекиси водорода на нервно-мышечную передачу у крыс после длительных физических нагрузок

Шакирзянова А.В. (Казань, nastyas@mail.ru), Акулов А.Н., Валеева Г.Р., Науменко Н.В.

Как известно, в работающих мышцах интенсивно образуются активные формы кислорода (АФК), которые играют значительную роль в механизмах стресса и мышечного утомления. Мы исследовали изменение содержания наиболее стабильной АФК – перекиси водорода, и ее действие на спонтанную квантовую секрецию ацетилхолина (АХ) в камбаловидных (медленного функционального типа) и диафрагмальных (смешанного типа) мышцах взрослых крыс – самцов после регулярных (плавание по 3 часа в день в течение 2-х недель) физических нагрузок.

Исследование содержания эндогенной перекиси водорода в мышцах проводилось с помощью спектрофотометрических методов регистрации. Действие экзогенной АФК на синаптическую передачу в нервно-мышечных синапсах крыс проводили внутриклеточно с использованием стандартной микроэлектродной техники.

С помощью спектрофотометрического метода исследования были обнаружены изменения содержания перекиси водорода в мышцах крыс после тренировок. Так, в контроле содержание перекиси в диафрагмальных мышцах составило 4,28±0,57 мкМ/г (n=5) сырого веса и 5,88±0,29 мкМ/г – в камбаловидных (n=6). После курса регулярных физических нагрузок содержание перекиси водорода в диафрагме составило 2,72±0,37 мкМ/г (n=5; P<0,05), а в камбаловидных мышцах – 8,49±0,93 мкМ/г (n=6; P<0,05). Частота миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) в нервно-мышечных синапсах диафрагмальной и камбаловидной мышц после регулярных физических нагрузок, по сравнению с интактными препаратами, заметно не изменилась, так же как не изменился эффект экзогенно апплицированной перекиси водорода (300 мкмоль/л) в синапсах диафрагмальных мышц. Однако, в препаратах камбаловидной мышцы, в то время как в контроле перекись угнетала частоту МПКП на 42±3% (n=6; P<0,05), в тренированных мышцах она не изменяла спонтанную секрецию (102±5% от исходных значений, n=7; P<0,05).

На основании полученных данных можно заключить, что физические тренировки вызывают изменение в содержании перекиси водорода в мышцах крыс, как медленного, так и смешанного типа. Причем, в случае диафрагмальных (смешанных) мышц мы наблюдали снижение продукции АФК, в то время как в камбаловидных (медленных) –

достоверное ее увеличение. Отсутствие эффекта экзогенной перекиси водорода на квантовую секрецию АХ в камбаловидных мышцах может объясняться избыточным действием эндогенной АФК, также как и одновременным повышением активности антиоксидантных ферментов.

Работа поддержана грантами РФФИ (07-04-01656), Президента РФ (МК-254.2008.4), МинОбрНауки РФ и CRDF.

Выявление фермента синтеза сероводорода – цистатионин β-синтазы в области нервно-мышечного синапса мышцы

Шафигуллин М.У. (Казань, maratshafigullin02@gmail.com)

Цистатионин β-синтаза (CBS) – фермент метаболизма серосодержащих аминокислот, продуктами которого являются H₂S, ионы аммония и пируват. Показано, что CBS в основном экспрессируется в мозге, печени и почках. Целью работы явилось выявление фермента синтеза сероводорода – CBS в диафрагмальной мышце.

Эксперименты проводили на нервно-мышечном препарате диафрагмы мышцы. Электрофизиологические эксперименты выполнены в условиях постоянной перфузии препарата оксигенированным раствором Кребса. Для устранения сокращения мышц в раствор добавляли d-тубокурарин (20 мкМ). Раздражение двигательного нерва проводили прямоугольными электрическими импульсами сверхпороговой силы длительностью 0,2-0,3 мс с частотой 0,2 имп/с. Методом внеклеточного микроэлектродного регистрировали токи концевой пластинки (ТКП). Для выявления мРНК в диафрагме мышцы использовали полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Осаждали мРНК гомогената диафрагмы мышцы в лизирующем растворе. Полученные препараты нуклеиновых кислот вводили в реакцию обратной транскрипции, а затем кДНК амплифицировали методом ПЦР. Были сконструированы олигонуклеотидные праймеры, специфичные к мРНК CSE. Для этого использовалась информация о нуклеотидной последовательности мРНК CSE, содержащаяся в базе данных GenBank (локус NM_145953). Разработанные пары праймеров были модифицированы с учетом нуклеотидных последовательностей мРНК выявленных для мышцы. Детекцию результатов ПЦР проводили методом горизонтального электрофореза в 2% агарозном геле, содержащем бромистый этидий (0,5 мкг/мл). Результаты визуализировали в УФ-свете (λ=310 нм). Для определения размеров амплифицированных фрагментов ДНК использовали молекулярные маркеры (100-1000 пары оснований (п.о.)).

Апликация донора H₂S – NaHS (100 мкМ) в перфузируемый раствор приводила к быстрому и обратимому увеличению вызванной секреции медиатора из нервной терминали. Наблюдалось увеличение амплитуды ТКП, которое к 10 минуте эксперимента достигло 139±10% (n=3 p<0,05) относительно контроля. Для блокирования CBS использовали аминоксацетиловую кислоту (АОАК). Блокирование CBS АОАК (1 мМ) приводило к уменьшению амплитуды ТКП до ТКП 69±9% (n=5 p<0,05) относительно контроля к 15 минуте эксперимента, что противоположно действию сероводорода.

При введении в реакцию ОТ-ПЦР препаратов РНК, полученных из диафрагмы мышцы, на электрофореграмме были выявлены фрагменты ДНК, лежащие в области 320-330 п.о. Обнаруженные фрагменты по своему размеру соответствуют теоретически ожидаемым амплификациям – 325 п.о., специфичных для мРНК CBS. Амплификационный синтез ДНК отсутствовал в образцах, предварительно обработанных рибонуклеазой А, что свидетельствует о том, что молекулярной мишенью в реакции ОТ-ПЦР служила мРНК, а не геномная ДНК. На основании полученных результатов можно сделать вывод об экспрессии мРНК CBS в изученных образцах.

Таким образом, было показано, что фермент синтеза сероводорода CBS экспрессируется в области нервно-мышечного синапса мышцы. Активация CBS будет

приводить к синтезу сероводорода, который будет являться эндогенным модулятором синаптической передачи.

Работа поддержана грантами РНП 2.1.1/786, и Ведущая научная школа НШ – 3368.2008.4.

Ранние изменения морфометрических показателей надпочечников половозрелых и неполовозрелых самцов крыс, адаптированных к периодическому холодovому воздействию

Яковенкова Л.А. (Астрахань, cond70@mail.ru)

При выработке адаптации к холодovому воздействию, у организма возникают и усиливаются механизмы, способствующие предотвращению переохлаждения. Определенный интерес, в свою очередь, представляет функциональная активация надпочечников. Они обладают широким диапазоном гормональных влияний на организм и выраженной функциональной лабильностью в ответ на действие холодovого фактора. Исходя из сказанного основная цель настоящего исследования сформулирована как изучение морфофункционального состояния коры надпочечников у половозрелых и неполовозрелых самцов крыс на ранних этапах холодovого воздействия. В работе использованы половозрелые самцы крыс средней массой 180 г. и неполовозрелые самцы крыс средней массой 80 г. Число животных, использованных в эксперименте, – 140 особей. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к пище и воде. Исследование проводилось в зимний период года. Холодovый стресс индуцировали помещением животных в холодильную камеру при температуре 4°C в индивидуальных клетках. На время экспозиции в камере включали освещение. В соответствии с поставленными целями были сформированы следующие группы: первая группа – контроль неадаптированный; вторая группа животных подвергалась холодovому воздействию ежедневно при температуре + 4°C в течении 3 часов на протяжении 20 дней. На 21 сутки крыс декапитуировали, не охлаждая (контроль адаптированный); третья–седьмая группы животных подвергали холодovому воздействию ежедневно при температуре + 4°C в течении 3 часов на протяжении 20 дней. На 21 сутки крыс охлаждали 15, 30, 45, 60 и 90 минут каждую группу соответственно. Крыс наркотизировали внутривентральным введением этаминала натрия (4 мг/100 г массы тела животного). Животных забивали декапитацией. Для морфологического исследования выделяли надпочечники фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Затем органы обрабатывали по стандартным гистологическим методикам. Готовые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Измеряли толщину коркового слоя надпочечника и толщину отдельных его зон. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы Biostat с использованием t-критерия Стьюдента. Обобщая полученные нами экспериментальные данные, можно заключить, что в условиях 20 дневного периодического охлаждения происходили существенные изменения морфоструктуры коры надпочечников. С целью оценки ранних изменений состояния надпочечниковой системы была исследована динамика морфометрических показателей после 15, 30, 45, 60, 90-минутного охлаждения. По мере увеличения холодovого воздействия толщина клубочкового слоя адаптированных половозрелых животных резко уменьшилась на 15 минуте, и далее эти показатели остаются сниженными, а у адаптированных неполовозрелых животных наблюдалось максимальное увеличение толщины клубочкового слоя на 45 минуте холодovого воздействия. У неполовозрелых животных, адаптированных к холоду, аналогично наблюдается общая тенденция увеличения толщины пучкового слоя на 45 минуте. Нами обнаружено, что у адаптированных к периодическому охлаждению самцов крыс независимо от их возраста наиболее

существенные перестройки морфоструктуры надпочечников появляются на 45 минуте охлаждения.

Ранняя динамика тиреоидных гормонов и кортикостерона в крови неполовозрелых самцов крыс, адаптированных к периодическому холодовому воздействию

Яковенкова Л.А. (Астрахань, cond70@mail.ru)

Адаптация к холодовому стрессу приводит к увеличению метаболического индекса и активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, увеличению уровня АКТГ и кортикостерона в плазме крови. В работах, посвященных изучению механизма холодовой адаптации, хорошо представлена динамика гормональной активности щитовидной железы и надпочечников. Сведения о том, как изменяется уровень тиреоидных гормонов и кортикостероидов в крови на ранних этапах холодового воздействия и как он зависит от адаптации к периодическому охлаждению, практически отсутствуют. Цель работы – изучить динамику уровня гормонов щитовидной железы и надпочечников в плазме крови со следующей периодичностью: 15, 30, 45, 60 и 90 минут охлаждения. Одной из задач нашего исследования было сопоставление ранней динамики у крыс, впервые подвергнутых холодовому воздействию и адаптированных к периодическому охлаждению. Работа выполнена на 105 неполовозрелых (возраст 5–6 недель) беспородных белых крысах (самцах). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к пище и воде. Исследование проводилось в зимний период года. Было проведено две серии экспериментов. В первой серии интактные животные подвергались однократному холодовому воздействию по схеме: 15, 30, 45, 60 и 90 минут при температуре +4°C в холодильной камере в индивидуальных клетках. Во второй серии эксперимента животные подвергались холодовой экспозиции ежедневно в течении 3 часов на протяжении 20 дней. Контрольные животные все это время содержались в аналогичных условиях, но при t +22°C. На время экспозиции в камере включали освещение. В соответствии с поставленными целями были сформированы следующие группы животных: первая группа – контроль неадаптированных. Вторая группа животных подвергалась холодовой экспозиции ежедневно при температуре + 4°C в течении 3 часов на протяжении 20 дней. На 21 сутки крыс декапитировали, не подвергая охлаждению (контроль адаптированный). Животных третьей – седьмой групп подвергали холодовой экспозиции ежедневно 3 часа на протяжении 20 дней. На 21 сутки крыс охлаждали 15, 30, 45, 60 и 90 минут каждую группу соответственно. После окончания холодовой экспозиции крыс наркотизировали и забивали декапитацией. Отбирали кровь для определения в ней уровней тиреоидных гормонов и кортикостерона иммуноферментным методом. Все полученные в ходе эксперимента данные статистически обрабатывали с помощью критерия Стьюдента. Содержание кортикостерона в крови у адаптированных животных возрастает на 15 минуте холодового воздействия, затем при увеличении временной экспозиции уровень его достигает достоверного снижения ($p < 0,05$) на 90 минуте экспозиции. Уровень тироксина у адаптированных самцов понижается уже при 15 минутном охлаждении, достигая минимума на 60 минуте. У неадаптированных самцов уровень тироксина имел тенденцию к уменьшению. Содержание адаптированных самцов на холоде с длительностью 45 минут привело к достоверному снижению уровня трийодтиронина ($p < 0,05$). У неадаптированных самцов изменения уровня трийодтиронина незначительны. Таким образом, адаптация к периодическому охлаждению способствовала выработке стереотипного гормонального ответа уже на первых минутах воздействия.