

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ
ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ «АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ»
THE RUSSIAN ACADEMY OF NATURAL HISTORY
PUBLISHING HOUSE «ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ
SCIENTIFIC REVIEW. BIOLOGICAL SCIENCES

№ 6
2016

Учредитель:
Издательский дом
«Академия Естествознания»,
440026, Россия, г. Пенза,
ул. Лермонтова, д. 3

Founding:
Publishing House
«Academy Of Natural History»
440026, Russia, Penza,
3 Lermontova str.

Адрес редакции
440026, Россия, г. Пенза,
ул. Лермонтова, д. 3
Тел. +7 (499) 704-1341
Факс +7 (8452) 477-677
e-mail: edition@rae.ru

Edition address
440026, Russia, Penza,
3 Lermontova str.
Tel. +7 (499) 704-1341
Fax +7 (8452) 477-677
e-mail: edition@rae.ru

Подписано в печать 30.12.2016
Формат 60x90 1/8

Типография ИД
Издательский дом
«Академия Естествознания»,
440026, Россия, г. Пенза,
ул. Лермонтова, д. 3

Signed in print 30.12.2016
Format 60x90 8.1

Typography
Publishing House
«Academy Of Natural History»
440026, Russia, Penza,
3 Lermontova str.

Технический редактор Скрягин С.В.
Корректор Андреев А.М.

Тираж 1000 экз.
Заказ НО 2016/6

Журнал «НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ» выходил с 1894 по 1903 год в издательстве П.П. Сойкина. Главным редактором журнала был Михаил Михайлович Филиппов. В журнале публиковались работы Ленина, Плеханова, Циолковского, Менделеева, Бехтерева, Лесгафта и др.

Journal «Scientific Review» published from 1894 to 1903. P.P. Soykin was the publisher. Mikhail Filippov was the Editor in Chief. The journal published works of Lenin, Plekhanov, Tsiolkovsky, Mendeleev, Bekhterev, Lesgaft etc.



М.М. Филиппов (M.M. Philippov)

С 2014 года издание журнала возобновлено
Академией Естествознания

From 2014 edition of the journal resumed by
Academy of Natural History

Главный редактор: М.Ю. Ледванов
Editor in Chief: M.Yu. Ledvanov

Редакционная коллегия (Editorial Board)

А.Н. Курзанов (A.N. Kurzanov)

Н.Ю. Стукова (N.Yu. Stukova)

М.Н. Бизенкова (M.N. Bizenkova)

Н.Е. Старчикова (N.E. Starchikova)

Т.В. Шнуровозова (T.V. Shnurovozova)

НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ
SCIENTIFIC REVIEW. BIOLOGICAL SCIENCES

www.science-education.ru

2016 г.



***В журнале представлены научные обзоры,
литературные обзоры диссертаций,
статьи проблемного и научно-практического
характера по биологическим наукам***

The issue contains scientific reviews, literary dissertation reviews, problem and practical scientific articles, based on biological sciences

СОДЕРЖАНИЕ

ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ РЕДКИХ СОКОЛОВ В АГРОЛАНДШАФТАХ АЛТАЯ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР) <i>Важов В.М., Черемисин А.А., Фефелова А.Ю.</i>	5
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ НА ПОПУЛЯЦИИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПРОИЗРАСТАЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИЯХ, ПОДВЕРГШИХСЯ РАДИОАКТИВНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС <i>Васильев Д.В., Кузьменков А.Г., Дикарева Н.С., Гераськин С.А.</i>	14
ПРИМЕНЕНИЕ АКТИВНЫХ УГЛЕЙ В ПРОЦЕССАХ ОЧИСТКИ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ <i>Джакашева М.А.</i>	20
ДОПИНГ: БИОЛОГО-ПРАВОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ <i>Иглин А.В.</i>	23
ХИТОЗАН: СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ <i>Камская В.Е.</i>	36
АМИНОКИСЛОТЫ, КАК БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ, В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ <i>Миняева О.А.</i>	43
МЕТОД ГРАССБЕРГЕРА-ПРОКАЧЧИА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФРАКТАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУРЫ <i>Носовский А. М., Сидоренко Л. А.</i>	48
АНАЛИЗ СВЯЗИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА С ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКОЙ НА ПРИМЕРЕ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ <i>Пастушкова Е.В.</i>	53
ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФЕНИЛГИДРАЗИНОВОЙ АНЕМИИ <i>Пахрова О.А., Криштон В.В., Ленчер О.С.</i>	60
НЕКОТОРЫЕ ФРАКТАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИГНАЛА ЭКГ (ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ЗАДАЧАМ ОБРАБОТКИ СИГНАЛА ЭКГ ВО ВРЕМЯ ВЫХОДА В ОТКРЫТЫЙ КОСМОС) <i>Поздняков С.В., Носовский А.М., Каминская Е.В., Плющай М.М.</i>	64
РАЗРАБОТКА КОНЦЕПТУАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЭКСПЕРТНЫХ СИСТЕМ В РАЗПОЗНАВАНИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ <i>Халдаров Х.А., Саттаров Ш.Ш., Инагамов С.Я.</i>	72
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕКРЕАЦИОННОГО ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ НА НАСЕЛЕНИЕ ПРЯМОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ (ОРТНОРТЕРА) КАТУНСКОГО РЕКРЕАЦИОННОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ <i>Худякова Н.Е., Малков П.Ю., Худякова Т.С.</i>	76
НОВЫЙ ПСИХРОФИЛЬНЫЙ КАТЕПСИН L ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАСНОГО КОРОЛЕВСКОГО КРАБА (PARALITHODES SAMTSCHEVICUS) <i>Исаев В.А., Балашова М.В., Шагин Д., Шагина И., Еремеев Н.Л., Руденская Г.Н.</i>	81

CONTENT

ECOLOGY AND DISTRIBUTION OF RARE FALCONS IN AGRICULTURAL LANDSCAPES OF ALTAI (REVIEW OF THE LITERATURE) <i>Vazhov V.M., Cheremisin A.A., Fefelova A.Y.</i>	5
INFLUENCE OF THE CHRONIC IRRADIATION AND WEATHER CONDITIONS ON POPULATIONS OF THE SCOTS PINE GROWING IN TERRITORIES, HAVE UNDERGONE TO RADIOACTIVE POLLUTION <i>Vasiliyev D.V., Kuzmenkov A.G., Dikareva N.S., Geras'kin S.A.</i>	14
THE USE OF ACTIVE CARBONS IN THE PROCESS OF PURIFICATION PECTOLYTIC ENZYMES <i>Dzhakasheva M.A.</i>	20
DOPE: BIOLOGO-LEGAL RESEARCH <i>Iglin A.V.</i>	23
CHITOSAN: STRUCTURE, PROPERTIES AND USING <i>Kamskaya V.E.</i>	36
AMINO ACIDS AS BIOLOGICAL OBJECTS IN AQUEOUS SOLUTIONS <i>Minyaeva O.A.</i>	43
METHOD FOR PROCACCI GRASSBERGER-DETERMINATION OF THE FRACTAL INDICATORS MORPHOLOGICAL STRUCTURES <i>Nosovsky A.M., Sidorenko L.A.</i>	48
ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF THE OCCURRENCE OF OXIDATIVE STRESS ECOLOGICAL CONDITIONS ON THE EXAMPLE OF SVERDLOVSK REGION <i>Pastushkova E. V.</i>	53
AGE FEATURES CHANGES RESISTANCE OF ERYTHROCYTES IN EXPERIMENTAL PHENYLHYDRAZINE ANEMIA <i>Pakhrova O.A., Chrishtop V.V., Lencher O.S.</i>	60
SOME FRACTAL CHARACTERISTICS SIGNAL ECG (IN RELATION TO THE TASKS OF THE ECG SIGNAL PROCESSING DURING A SPACEWALK) <i>Pozdnyakov S.V., Nosovsky A.M., Kaminskaya E.V., Plushai M.M.</i>	64
DEVELOPMENT OF CONCEPTUAL MODELS OF EXPERT SYSTEMS IN THE RECOGNITION OF BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES <i>Khaldarov H.A., Sattorov Sh.Sh., Inagamov S.Y.</i>	72
ASSESSMENT OF INFLUENCE OF RECREATIONAL LAND USE ON POPULATION OF ORTHOPTEROUS INSECTS (ORTHOPTERA) IN THE KATUN RECREATION DISTRICT OF THE ALTAI REPUBLIC <i>Khudyakova N.E., Malkov P.Yu., Khudyakova T.S.</i>	76
NOVEL PSYCHROTROPHIC CATHEPSIN L FROM THE HEPATOPANCREAS OF RED KING CRAB (PARALITHODES CAMTSCHATICUS) <i>Isaev V.A., Balashova M.V., Shagin D., Shagina I., Ereemeev N.L., Rudenskaya G.N.</i>	81

УДК 598.2 (571.15)

ЭКОЛОГИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ РЕДКИХ СОКОЛОВ В АГРОЛАНДШАФТАХ АЛТАЯ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

Важов В.М., Черемисин А.А., Фефелова А.Ю.

ФГБОУ ВО Алтайский государственный гуманитарно-педагогический университет имени В.М. Шукшина, Бийск, e-mail: vazhov49@mail.ru

В статье приводится научный обзор литературных и других данных по экологии и распространению балобана и сапсана в агроландшафтах Алтая. Анализируется современное состояние их гнездовых группировок. Многочисленные угрозы для данных видов соколов порождаются нерациональным использованием территории региона. В ряду естественных факторов, ограничивающих численность, основными являются дефицит гнездовых мест и пищи, хищничество крупных пернатых хищников на гнездах соколов. Негативное значение имеет гибель птиц на линиях электропередачи, такие случаи на территории региона не единичны, вероятно, продолжает действовать и фактор аккумуляции хлорорганических соединений, особенно при питании соколов птицами, зимующими в «грязных» по пестицидам районах Азии. В последние годы большое значение имеет браконьерский отстрел соколов голубятниками. К первоочередным мерам охраны балобана и сапсана в Алтайском крае можно отнести исключение незаконного вывоза диких соколов за границу, усиление штрафных санкций за отстрел и отлов взрослых птиц, а также целевое финансирование исследований по биологии, разведению и реинтродукции этих видов. Важной составляющей является совершенствование правовой защиты пернатых хищников на территории Алтайского края и соседних субъектов Российской Федерации.

Ключевые слова: соколообразные (Falconiformes), балобан (*Falco cherrug* Gray, 1834), сапсан (*Falco peregrinus* Tunstall, 1771), Алтайский край, гнездование, размножение, меры охраны

ECOLOGY AND DISTRIBUTION OF RARE FALCONS IN AGRICULTURAL LANDSCAPES OF ALTAI (REVIEW OF THE LITERATURE)

Vazhov V.M., Cheremisin A.A., Fefelova A.Y.

The Shukshin Altai State Humanities Pedagogical University, Biysk, e-mail: vazhov49@mail.ru

The article provides a review of the scientific literature and other data on the ecology and distribution of Saker and Peregrine in agricultural landscapes of Altai. The present status of their breeding groups. Numerous threats to these species are generated by irrational use of falcons in the region. In a series of natural factors limiting the number of main deficits are nesting places and food, predation by large birds of prey on the nests of falcons. A negative value is the death of birds on power lines, such cases in the region are not unique, perhaps, it continues to operate and the factor of accumulation of organochlorine compounds, especially when feeding falcons birds wintering in the "dirty" Pesticide parts of Asia. In recent years, great importance is trapping and shooting falcons breeders of pigeons. The priority actions protect Saker and Peregrine in the Altai region may include the exclusion of illegal export of wild falcons abroad, strengthening penalties for shooting and catching adult birds, as well as targeted funding for research on the biology, breeding and reintroduction of these species. An important component is to improve the legal protection of birds of prey in the Altai Territory and the neighboring Russian Federation.

Keywords: birds of prey (Falconiformes), saker falcon (*Falco cherrug* Gray, 1834), peregrine falcon (*Falco peregrinus* Tunstall, 1771), Altai, nesting, reproduction, protection measures

Птицы отряда соколообразных (Falconiformes), образуют четкую экологическую группу пернатых хищников, являются вершинным звеном экологической пирамиды, в связи с чем, они наиболее уязвимы и остро реагируют на изменения окружающей среды, происходящие под влиянием хозяйственной деятельности человека, в том числе в аграрной сфере. Состояние популяций данных птиц может служить критерием благополучия природной территории [25, 30, 47].

Особая роль принадлежит хищным птицам в естественном отборе. Они добывают, в основном, больных, ослабленных и неполноценных животных и тем самым предотвращают распространение болезней и способствуют процветанию вида.

Умеренное "хищничество" часто снижает плотность доминантов, давая возможность менее конкурентоспособным видам лучше использовать пространство и ресурсы [24, 45, 49]. Бесспорна также и эстетическая значимость хищных птиц, особенно в настоящее урбанизированное время, когда человек всё больше стал стремиться на отдых в природу [11, 21]. Птицы являются необходимым элементом природных экосистем и ярким украшением природы Алтая.

Территория Алтайского края в основном представлена сельскохозяйственными угодьями и характеризуется широким спектром аграрных ландшафтов. Регион отличается богатством и разнообразием фауны соколообразных птиц, почти половина из них – редкие и исчезающие виды, в том

числе балобан (*Falco cherrug* Gray, 1834) и сапсан (*Falco peregrines* Tunstall, 1771) [35, 36, 37]. Земледелие и кормопроизводство края более чем, на 90% базируется на полевых и лугово-пастбищных ландшафтах. Агроландшафты служат трофическими, репродуктивными и зимовальными станциями для соколообразных [2, 12, 48].

На современном этапе проблемной областью науки и практики является сохранение биологического разнообразия, причем не только тех видов, которые уже стали редкими, но и обычных, так как они также представляют собой элементы экосистем, необходимые для их устойчивого функционирования. В частности, в настоящее время не вызывает сомнений огромная роль пернатых хищников в регуляции численности массовых видов мелких млекопитающих и воробьиных птиц, которые в агроландшафтах нередко становятся вредителями зерновых и других культур, а также переносчиками опасных трансмиссионных заболеваний человека и сельскохозяйственных животных. Как правило, это наблюдается во время всплеск численности, характерных именно для агроландшафтов [10, 15].

В Алтайском крае к ложбинам древнего стока на Приобском плато приурочены ленточные сосновые боры, которые выделяются на фоне соседних территорий (кроме предгорий Алтая) как очаг разнообразия соколообразных, занесенных в красные книги федерального и регионального уровней. Обусловлено это уникальным сочетанием песчано-эоловых боровых ландшафтов и обширных водно-болотных угодий, обеспечивающих оптимальный субстрат для устройства гнезд в виде старовозрастных сосен (*Pinus sylvestris*) и богатую кормовую базу для крупных хищников, главным образом, в виде популяций таких грызунов, как краснощёкий суслик (*Spermophilus erythrogenus*) и водяная полевка (*Arvicola terrestris*), а также массовых видов околоводных птиц [14, 16, 46].

В настоящее время балобан снизил свою численность до критического уровня таким образом, что в ближайшее время может исчезнуть [17]. Численность сапсана на Алтае пока, по видимому, остается достаточно стабильной, но обилие угрожающих факторов может привести к быстрому ее уменьшению.

Falco cherrug Gray, 1834 – балобан, редкий гнездящийся на Алтае вид. Имеются основания считать балобана перелетным, хотя на Алтае этот сокол отмечается и в холодное время года. В отдельные зимы концентрируется на сельскохозяйственных угодьях, вблизи животноводческих стоянок,

на необрабатываемых пахотных землях, заросших сорняками, где обитают зимующие мелкие птицы, представляющие пищевой объект для балобана [38]. Занесен в Красные книги: Российской Федерации [31], Республики Алтай [33], Алтайского края [32] и других регионов в пределах ареала.

Балобан – крупный сокол, масса самок достигает 1,5 кг, самцы гораздо легче – до 1 кг. Балобан имеет своеобразный окрас туловища: верхняя сторона тела бледно – или серовато-бурая. Голова несколько светлее. Нижняя часть тела также светлая, с более или менее заметными каплевидными пестринами. Бывают случаи, когда встречаются птицы с темно-бурой окраской нижней части тела или с очень светлой головой. Отличие сапсана от балобана заключается в том, что второй более крупный, сложение его тела менее плотное, характеризуется меньшей яркостью окраски и слабо выраженными “усами”, от кречета отличается рыжеватыми тонами в окраске [41].

В российской части ареала балобан населяет лесостепь, южные окраины лесной зоны, островные леса в степях, предгорья и склоны гор южной части страны [5, 9, 22, 23, 31]. Ранее балобан обитал во всех степных и лесостепных районах Алтайского края [13]. В настоящее время численность сокола сократилась в десятки раз и он уже не гнездится в междуречьях Чарыша и Ануя, Бии и Катуня, на большей части Бие-Чумышской возвышенности. Численность сокола не превышает 140 пар.

Во второй половине XX в. балобан регулярно гнезился на территории Бие-Чумышской возвышенности, в междуречье Бии и Катуня; в степях Кулунды; в верховье Барнаулки и у города Барнаула [13]. Сокол наблюдался на гнездовье на Коксуйском и Коргонском хребтах; в Локтевском районе, в том числе в одноименном заказнике; Алейском, Угловском районах. Во время гнездования был известен в Панкрушихинском, Косихинском, Волчихинском, Краснощекском, Курьинском, Смоленском, Ельцовском и Кытмановском районах. В последнее десятилетие отмечен в Третьяковском, Бурлинском районах. Материалы анкетирования 2004 г. добавляют еще и Мамонтовский, а также Советский районы. Исследования Сибэкоцентра (г. Новосибирск) и Центра полевых исследований (г. Нижний Новгород) показали, что 12 лет назад на территории региона балобан гнезился в Барнаульской и Касмалинской боровых лентах, а также в предгорьях Западного Алтая. В период сезонных миграций балобан пока еще встречается на всей территории края. Зимующие особи этого сокола

Таблица 1

Параметры (M±SD, Lim, n) пространственного размещения гнезд некоторых видов хищных птиц в ленточных борах Приобского плато (по Vazhov, 2013)

Параметр	Вид					
	Aquila clanga	Aquila heliaca	Aquila chrysaetos	Haliaeetus albicilla	Falco cherrug	Bubobubo
Расстояние до ближайшей опушки, м	390±540, Lim 0-1900, n=45	60±150, Lim 0-1070, n=101	170±170, Lim 0-350, n=5	260±170, Lim 0-630, n=11	60±160, Lim 0-620, n=28	130±230, Lim 0-1260, n=50
Расстояние до населенного пункта, м	3360±1840, Lim 360-7350, n=44	2710±2140, Lim 0-9500, n=96	4050±2310, Lim 1540-6270, n=5	4010±1380, Lim 1630-6370, n=11	3350±2660, Lim 530-13140, n=28	3090±2240, Lim 480-9760, n=51
Расстояние до ближайшего гнезда своего вида, м	3270±2000, Lim 1000-8310, n=32	6380±3460, Lim 1560-14920, n=84	17740±160, Lim 17650-17920, n=3	4660±10, Lim 4650-4660, n=2	7930±2230, Lim 4590-12270, n=19	4360±3460, Lim 530-12380, n=42
Расстояние до ближайшего гнезда другого вида, м	1930±1580, Lim 100-5690, n=32	3730±4330, Lim 40-22330, n=63	5630±3010, Lim 760-8210, n=5	2390±1630, Lim 470-5060, n=9	2160±2380, Lim 90-9650, n=23	1450±1220, Lim 80-5160, n=39
Расстояние до водоема, м	930±1290, Lim 0-4850, n=45	2540±3240, Lim 0-22330, n=96	1990±2160, Lim 250-4900, n=5	700±950, Lim 0-2700, n=11	2640±3050, Lim 390-14310, n=28	1330±1740, Lim 0-8000, n=51
Расстояние до водотока, м	4860±3070, Lim 10-12460, n=34	8050±5160, Lim 220-19400, n=55	3440±1140, Lim 2220-5300, n=5	5990±3770, Lim 650-11150, n=11	10530±5720, Lim 1160-17170, n=10	8060±4730, Lim 270-19570, n=44
Расстояние до болота, м	600±850, Lim 0-3860, n=42	3060±3090, Lim 0-17700, n=96	800±730, Lim 160-1960, n=5	620±1150, Lim 0-4000, n=11	6710±4440, Lim 0-14470, n=26	1150±1430, Lim 0-8810, n=51
Расстояние до используемой дороги, м	1220±1100, Lim 20-4280, n=42	470±670, Lim 0-5030, n=96	2450±1750, Lim 30-4880, n=5	1040±910, Lim 20-2580, n=11	440±480, Lim 30-2540, n=28	770±870, Lim 20-4350, n=51
Высота расположения гнезда на дереве, м	11±4, Lim 4-20, n=52	23±4, Lim 10-30, n=107	14±3, Lim 10-18, n=5	19±3, Lim 14-25, n=11	23±3, Lim 15-28, n=33	0, n=62

часто держатся в местах скопления голубей и других птиц.

С целью выявления различий пространственных ниш, характерных для Приобского плато, крупных видов хищных птиц проведен дискриминантный анализ [47] (табл. 1).

При анализе были использованы 9 параметров пространственного размещения гнезд. Все дистанции, кроме высоты расположения гнезд, измерялись в среде ГИС с точностью до 10 м (более точное измерение невозможно из-за погрешности спутниковых навигаторов, с помощью которых были определены координаты гнезд). Высота расположения гнезд на дереве измерялась веревкой с известной длиной, либо, с известной долей приближенности, – на глаз. Поэтому данные по высоте округлялись до 1 м. Дистанции между ближайшими гнездами (как одного, так и разных видов) измерялись лишь в том случае, если эти гнезда

были активными на момент обследования, то есть жилыми, либо пустыми, но занятыми птицами, о чем имеется соответствующая информация в базе данных [47].

Разнообразие ниш среди видов возрастает в процессе эволюции благодаря невыгодности отбора в направлении прямой конкуренции видов по сравнению с преимуществами отбора в сторону дифференциации ниш [42, 43, 44]. Преимуществами дифференциации ниш являются надежное обеспечение ресурсами разного типа как условие поддержания разных видов и относительная независимость от конкуренции за эти ресурсы с другими видами [46, 47, 50].

Дискриминантный анализ параметров размещения гнезд хищных птиц по включенным в модель параметрам, таким как расстояние до ближайшей опушки, до ближайших гнезд своего и другого вида, до водотока, а также высота расположения гнезд, показал четкие различия между про-

странственными нишами указанных видов хищных птиц в ленточных борах. Функции классификации отображены в таблице 2. Анализ показал, что дискриминантная функция в целом корректно классифицирует около 94,33% случаев (табл. 3), поэтому можно заключить, что классификация вполне удовлетворительно отображается через линейные дискриминантные функции.

Перекрытие ниш говорит о сходстве требований этих видов к местообитаниям и подтверждается наблюдаемыми фактами гнездования балобана (который не строит собственных гнезд) как в старых постройках могильника, так и беркута.

Проведенный анализ дает возможность выявить, по каким параметрам из 9 анализируемых в наибольшей степени дифференцируются пространственные ниши рассматриваемых видов хищных птиц [47]. Ведущее значение при разделении видов (по F-критерию Фишера) имеют такие параметры, как высота расположения гнезда на дереве и расстояние до ближайшего активного гнезда своего вида. К наиболее

информативным параметрам для дифференциации относятся также расстояние до водотока (т.е. до реки или канала), расстояние до ближайшей опушки и расстояние до ближайшего активного гнезда другого вида хищных птиц. Расстояние до ближайшей используемой дороги, а также до болота, водоема и населенного пункта, по-видимому, играет гораздо меньшую роль в дифференциации пространственных ниш изучаемых видов.

На основе полученных данных, можно заключить, что сообщество крупных хищных птиц ленточных боров Приобского плато существенно отличается по дифференциации пространственных ниш видов от аналогичного сообщества в предгорьях Алтая, которые граничат с Приобским плато [47]. В предгорьях пространственная ниша филина сильно перекрывается с таковыми могильника и беркута [10], в ленточных борах же, напротив, ниши могильника и филина, как уже упоминалось, максимально различны.

Таблица 2
Коэффициенты классифицирующей дискриминантной функции для анализируемых параметров (по Vazhov, 2013)

Параметр	Вид					
	Aquila clanga (p=0.22695)	Aquila heliaca (p=0.39007)	Aquila chrysaetos (p=0.02128)	Haliaeetus albicilla (p=0.01418)	Falco cherrug (p=0.07092)	Bubo bubo (p=0.27660)
Расстояние до ближайшей опушки, м	0.0043	0.0022	0.0028	0.0042	0.0013	0.00081
Расстояние до населенного пункта, м	0.0007	0.0008	0.0007	0.0008	0.0005	0.00048
Расстояние до ближайшего гнезда своего вида, м	0.0006	0.0015	0.0026	0.0010	0.0016	0.00052
Расстояние до ближайшего гнезда другого вида, м	0.0006	0.0011	0.0010	0.0007	0.0008	0.00011
Расстояние до водоема, м	-0.0000	0.0002	0.0003	-0.0000	0.0005	0.00012
Расстояние до водотока, м	-0.0002	-0.0006	-0.0008	-0.0006	-0.0005	0.00033
Расстояние до болота, м	0.0002	0.0005	0.0005	0.0002	0.0009	0.00019
Расстояние до используемой дороги, м	0.0018	0.0006	0.0030	0.0013	0.0013	0.00189
Высота расположения гнезда на дереве, м	1.7367	4.1637	3.6090	2.9089	3.6084	-0.10301
Константа	-13.5203	-52.2332	-60.1620	-29.8934	-46.3932	-5.80923

В предгорьях, по данным дискриминантного анализа, ведущее значение при разделении видов (по F-критерию Фишера) имеют такие параметры, как густота расчленения рельефа (т.е. среднее расстояние между соседними понижениями рельефа) и расстояние до ближайшего активного гнезда своего вида. Высота расположения гнезда на субстрате (гнезда располагаются как на деревьях, так и на скалах) в предгорьях, в отличие от ленточных боров играет гораздо меньшую роль в дифференциации пространственных ниш хищных птиц. Густота расчленения рельефа в местах гнездования рассматриваемых видов хищных птиц в ленточных борах Приобского плато практически везде одинакова и незначительна, по сравнению с таковой в предгорьях Алтая. Поэтому этот параметр в данном случае не анализировался [47].

Чтобы ответить на вопрос, как влияют внутри- и межвидовая конкуренция на выбор местообитаний, используемых хищниками для гнездования в ленточных борах, нужно проанализировать расстояния до ближайших соседей своего и другого вида [47].

В рассматриваемом сообществе внутривидовая конкуренция явно играет большую роль, чем межвидовая, т.к. расстояние до ближайшего активного гнезда своего вида во всех случаях значительно больше, чем до такового других видов (табл. 1). Доказательством преимущественной роли внутривидовой конкуренции является также сильное перекрытие пространственных ниш могильника, балобана и беркута [47].

Таким образом, результаты дискриминантного анализа параметров размещения 296 гнезд 6 видов хищных птиц (с включением в модель таких параметров,

как расстояние до ближайшей опушки, до ближайших гнезд своего и другого вида, до водотока, а также высота расположения гнезд) указывают на большую близость параметров размещения некоторых гнезд могильника, балобана и беркута [47]. Тем не менее, дифференциация пространственных ниш очевидна и хорошо прослеживается на диаграмме рассеяния канонических значений. В зоне близких значений лежат данные по гнездам, которые реально на местности находятся в непосредственной близости, как правило, это гнезда балобана, устроенные в старых постройках могильника.

Для местообитания балобана необходимо сочетание высокоствольных участков леса, где располагаются гнезда и открытые пространства с низким травостоем, пригодные для охоты сокола [29, 41]. В соответствии с этими особенностями балобан заселяет лесостепные ландшафты, колочные степи, опушки лесных массивов. В предгорьях гнезда сокола могут размещаться не только на деревьях, но и на скальных обнажениях [1,6].

Балобан – один из самых угрожаемых видов на Алтае из-за высокого спроса на него любителей соколиной охоты в арабских странах [17]. Поэтому в последние годы численность балобана в Алтайском крае катастрофически сократилась – на равнинной части региона более чем, на 90%. Основная причина – браконьерский отлов птиц. Балобан является популярной охотничьей птицей у зарубежных сокольников, птицы из ленточных боров представляли большой коммерческий интерес, поэтому пресс их отлова был беспрецедентным последние 10 лет.

Таблица 3

Оценка качества классификации (метрика Евклида) по частоте ошибочной дискриминации (по Vazhov, 2013)

Вид	% корректной дискриминации	Вид					
		<i>Aquila clanga</i> (p=0.2269)	<i>Aquila heliaca</i> (p=0.39007)	<i>Aquila chrysaetos</i> (p=0.02128)	<i>Haliaeetus albicilla</i> (p=0.01418)	<i>Falco cherrug</i> (p=0.07092)	<i>Bubobubo</i> (p=0.27660)
<i>Aquila clanga</i>	96.87	31	0	0	0	0	1
<i>Aquila heliaca</i>	92.73	0	51	1	1	2	0
<i>Aquila chrysaetos</i>	100.00	0	0	3	0	0	0
<i>Haliaeetus albicilla</i>	100.00	0	0	0	2	0	0
<i>Falco cherrug</i>	70.00	0	3	0	0	7	0
<i>Bubobubo</i>	100.00	0	0	0	0	0	39
Всего	94.33	31	54	4	3	9	40

Примечание: в строках – наблюдаемый класс, в столбцах – рассчитанный класс.

В предгорной и горной части края численность балобана также сократилась по сравнению с началом 2000-х гг., но не так катастрофически, как на равнине. Обусловлено это трудностью отлова птиц браконьерами в сильно пересеченной местности.

Прогнозы, основанные на результатах исследований и разных сценариях, говорят о том, что игнорирование чрезвычайных мер охраны балобана может привести к вымиранию его в течение ближайших 15 лет. Об этом говорят следующие факты. Примерная численность балобана на Западно-Сибирской равнине составляла в конце 1980-х гг. 1 тыс. особей. В 2003–2004 гг. относительно благополучная ситуация сложилась в равнинной части Алтайского края [28, 32]. Здесь обнаружено 32 жилых гнезда балобанов. Четыре гнездовых участка зафиксировано в западных предгорьях Алтая. Экстраполируя результаты исследований на гнездопригодную территорию, авторы цитируемых работ оценивают численность балобана в предгорьях Западного Алтая в 33–34 пары, на Бие–Чумышской возвышенности – в 2–3, и в борových лентах Обского левобережья – в 58–85 пар, что в совокупности составляет в крае всего 99–140 пар. Таким образом, численность балобана сократилась в десятки раз [17, 28].

В новое издание Красной книги Алтайского края балобан предложен в качестве вида, находящегося под угрозой исчезновения (категория I – вид у которого численность особей уменьшилась до критического уровня таким образом, что в ближайшее время он может исчезнуть) [17].

Большинство балобанов вне времени гнездования совершают более или менее регулярные кочевки [30]. Часть птиц, особенно самцы, ведут оседлый образ жизни. Начинают размножаться соколы в основном на 3-м году жизни. Пары постоянны. Гнездовые участки балобаны используют многие годы. К гнездованию приступают в конце марта – начале апреля. Своих гнезд балобан, как и другие соколы, не строит, а занимает постройки других птиц. В предгорьях Алтая это, в основном, гнезда ворона на скалах. Известен один случай гнездования балобана в постройке ворона на металлической опоре высоковольтной ЛЭП [13]. В редких случаях птица откладывает яйца прямо в ниши скал без всякой подстилки. В кладке балобана обычно 4–5 яиц. Насиживает в основном самка со 2–3-го яйца – 34–35 дней. Птенцов балобаны выкармливают сусликами, полевками, пищухами [10, 41].

Птенцы покидают гнездо в возрасте около 6 недель и почти месяц держатся вблизи. В августе уже самостоятельные мо-

лодые балобаны начинают кочевать. Основу питания соколов летом в Алтайском крае составляют краснощекий и длиннохвостый суслики [10, 28], а также степная пищуха, хомяки, полевки, мелкие и средние птицы. С сентября доля грызунов в питании снижается, а птиц – нарастает. Зимой балобаны становятся орнитофагами, их добычей являются голуби, врановые и куропатки.

Первостепенные лимитирующие факторы балобана [3, 17, 28]: ухудшение среды обитания из-за усиливающейся хозяйственной деятельности; сокращение ареала и численности сусликов и других грызунов [16], так как это ухудшило кормовую базу, а применение ядохимикатов негативно отразилось на размножении птиц и грызунов [18, 19]. Наибольшее влияние на численность популяции балобана оказывает разорение гнезд и незаконный отлов птиц, браконьерский отстрел.

Необходимые меры охраны балобана [2, 10, 17, 28, 31, 32]: исключить незаконный вывоз диких соколов за границу, усилить штрафные санкции за отстрел и отлов взрослых птиц, за изъятие из гнезд яиц и птенцов, изыскать целевое финансирование исследований по биологии, разведению и реинтродукции балобана в Алтайском крае. Возможна реинтродукция сокола на базе Тигирекского заповедника, Чинетинского заказника, ленточно-боровых заказников: Егорьевского, Волчихинского, Мамонтовского, Касмалинского, Кулундинского, Завьяловского, Корниловского, Алеусского и Панкрушихинского, а также проектируемого национального парка Горная Колывань [40].

В России функционируют три питомника, где ежегодно размножаются балобаны. В питомнике редких птиц “Алтай Фалькон” (г. Барнаул) размножаются более двадцати пар. В отдельные годы сотрудники питомника выпускают в природу десятки соколов, выведенных в этом питомнике [В.Н. Плотников, личн. сообщ.]. Однако дальнейшая судьба выпущенных птиц остается неизвестной. Весьма вероятно, что все они (или почти все), погибают в первый год жизни на воле из-за отсутствия или недостаточного развития жизненно важных адаптаций.

Falco peregrines Tunstall, 1771 – сапсан, редкий сокол, гнездящийся в предгорьях Алтая [1]. Перелетный, хотя иногда отмечается и в холодное время года. Занесен в Красные книги: Российской Федерации [31], Республики Алтай [33], Алтайского края [32] и других субъектов РФ в пределах ареала.

Территория Алтайского края и Республики Алтай имеет ключевое значение для сохранения сапсана [10, 26, 34, 39]. В регио-

не пока еще отмечаются гнездовые группировки данного сокола, но на них действуют многие угрожающие факторы [2, 17].

Сапсан характеризуется мощным телосложением, имеет длинные узкие крылья и сравнительно короткий хвост. Сапсан, обитающий на Алтае, представляет собой одну из самых темноокрашенных форм. Сверху птица темно-сизовато-серая. Под глазами крупные черные пятна, переходящие по бокам головы в «усы». Низ туловища светлый, с охристым оттенком, на боках – сизоватый, с черноватыми поперечными полосами рисунка, который часто распространяется на испод крыла, голень, подхвостье. На зобе и груди – черноватые наствольные штрихи и округлые пятна. Клюв синеовато-бурый, восковица и лапы – желтые [41].

Биоценологическая роль сокола в природе весьма важна, но в настоящее время снижается на резким падением численности. Являясь конечным звеном в трофических цепях, сапсан выполняет селективную функцию в популяциях жертв. Как активный орнитофаг, он может оказывать хищнический пресс на массовые виды врановых и хищных птиц, в частности, на черного коршуна [8].

Гнездовые станции сапсана в пределах ареала разнообразны [1, 4]. В условиях горного рельефа на Алтае гнездится исключительно на скалах, но встречается только там, где есть древесная растительность, хотя сплошного леса избегает, так как для охоты сапсану необходимы обширные открытые пространства. Гнездится также на скальных обнажениях речных долин, склонов хребтов и на денудационных останцах, причем яйца, в отличие от балобана, как правило, откладывает прямо в ниши и на полки скал, обычно под прикрытием кустарников или травы (спирея, карагана, шиповник, можжевельник, крапива, полынь и т.д.). Питается сапсан почти исключительно птицами, в основном, врановыми, голубями и околоводными, причем ловит их в воздухе. Часто охотится на пустельгу, ушастых и болотных сов, а сам может стать добычей филина.

В настоящее время в предгорьях Алтая известно 19 гнездовых участков сапсана, что составляет 11,2–18,1% от расчётной численности, которая оценивается в 105–169 гнездящихся пар. Расстояние между ближайшими соседними активными гнездами варьирует от 2000 до 8850 м [10, 27]. Как одиночные птицы, так и пары сапсанов постоянно регистрируются на окраине Бийска и в его окрестностях, как правило, во внегнездовое время, в том числе зимой [7].

Выявлены некоторые особенности питания сапсана на Алтае [8]. За период наблюдений у гнезда и около него собраны

остатки следующих жертв сокола: черная ворона – 15 птиц (41,6%); обыкновенная сорока – 6 птиц (16,6%); обыкновенная пустельга – 6 птиц (16,6%); мелкие воробьиные птицы (виды не определены) – 3 особи (8,3%); ушастая сова – 2 птицы (5,6%); по одной особи (по 2,7%): галка, черноголовый щегол, кулик (вид не определен) и мелкое млекопитающее (вид не определен). Собрано также 16 погадок, которые состояли исключительно из перьев.

По всей вероятности заметных изменений роста численности сапсана на протяжении десятилетий на Алтае не наблюдается. Эта птица здесь всегда была и остается редкой, и в будущем, даже при самых благоприятных обстоятельствах, трудно ожидать значительного подъема численности [17, 34].

В ряду естественных факторов, ограничивающих численность сокола, основными являются дефицит гнездовых мест и пищи, хищничество филинов и других хищников на гнездах сапсана. Негативное значение может иметь гибель птиц на линиях электропередачи, такие случаи на территории региона не единичны, вероятно, продолжает действовать и фактор аккумуляции хлорорганических соединений, особенно при питании сапсана птицами, зимующими в «грязных» по пестицидам районах Азии. В последние годы большое значение имеет браконьерский отстрел соколов голубятниками [17].

В настоящее время сапсана во многих странах успешно разводят в неволе с последующим выпуском в природу. В Алтайском крае под Барнаулом работает Центр «Алтай-Фалькон» по разведению соколов, в котором успешно разводят сапсана [32]. Определенный опыт в этом направлении наработан в Окском заповеднике.

На основании выше сказанного можно сделать вывод о том, что современное состояние гнездовых группировок соколообразных в Алтайском крае вызывает большую тревогу. Выживание многих из них в настоящее время поставлено под вопрос, так как многочисленные угрозы порождаются крайне нерациональным лесопользованием, разработкой полезных ископаемых, сельскохозяйственным использованием степных территорий, инфраструктурой энергетического комплекса, браконьерством и иной деятельностью человека. Большинство имеющихся в крае особо охраняемых природных территорий либо не включают важных для соколиных птиц биотопов, либо имеют режим, даже формально не способный обеспечить защиту этих видов.

Балобан и сапсан активно используются любителями соколиной охоты в качестве

ловчих птиц. Кроме того они имеют большое культурное и эстетическое значение – дополняют пейзажное разнообразие естественных ландшафтов, придавая им особую красоту, являются интересным объектом наблюдения не только для любителей редких птиц и рекреантов, но и для живописцев в разных жанрах искусства, где содержание и формы природы передаются в художественных образах, обладающих органической завершенностью [20, 21].

Результаты исследований показывают, что негативное влияние на привлекательность агроландшафтов, как местообитаний для пернатых хищников в Алтайском крае, оказало снижение интенсивности выпаса на лугово-пастбищных угодьях, уменьшение площади под многолетними насаждениями, несоблюдение севооборотов и снижение удельного веса паров. Положительное влияние, в свою очередь, имело создание защитных лесных полос и трансформация залежи во вторичные степи с последующим доминированием в травостое дерновинных злаков [45].

Разработка основных направлений региональной экономики в землепользовании Алтайского края, с учетом наличия природных и производственных ресурсов, может обеспечить не только сбалансированность компонентов агроландшафтов и воспроизводство почвенного плодородия, но и сохранение редких и исчезающих видов пернатых хищников, таких как балобан и сапсан. Необходим постоянный мониторинг пока ещё сохранившихся гнездовых группировок соколиных птиц.

К первоочередным мерам охраны балобана и сапсана в регионе можно отнести исключение незаконного вывоза диких соколов за границу, усиление штрафных санкций за отстрел и отлов взрослых птиц, а также целевое финансирование исследований по биологии, разведению и реинтродукции этих видов соколов. Важной составляющей является совершенствование правовой защиты пернатых хищников на территории Алтайского края и соседних субъектов Российской Федерации.

Данные, приведенные в статье, получены при выполнении темы НИР: «Реализация краеведческого подхода в географическом образовании через научно-исследовательскую деятельность», номер государственной регистрации № АААА-А17-117011000005-0.

Список литературы

1. Бочкарева Е.Н., Ирисова Н.Л. Птицы Тигирекского заповедника // Труды Тигирекского заповедника. Вып. 2. Барнаул, 2009. 209 с.
2. Важов В.М., Важов С.В., Бахтин Р.Ф. К вопросу об экологии соколообразных и совообразных в агроландшафтах Алтайского края // Мир науки, культуры, образования. 2015. № 1. С. 398–400.
3. Важов С.В., Бахтин Р.Ф. Некоторые данные о фауне Falconiformes Юго-Восточного Алтая // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий. Вып. № 10 / Отв. ред.: В.В. Аношин. Абакан: изд-во Хакасского гос. ун-та им. Н.Ф. Катанова, 2006. С. 70.
4. Важов С.В., Бахтин Р.Ф. К распространению некоторых редких видов соколообразных (Falconiformes) в Алтайском крае и Республике Алтай // Алтай: экология и природопользование: Труды VI Российско-монгольской научной конференции молодых учёных и студентов / Ответственный редактор: В.М. Важов. Бийск: РИО БПГУ им. В.М. Шукшина, 2007. С. 67–70.
5. Важов С.В., Бахтин Р.Ф. О встречах редких видов соколообразных (Falconiformes) в Алтайском и Советском районах Алтайского края // Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее: Материалы Международной конференции. Ч. 1. Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2008. С. 56–60.
6. Важов С.В. О гнездовании редких пернатых хищников на горе Бабурган, Алтайский край, Россия // Пернатые хищники и их охрана. 2009. № 15. С. 111.
7. Важов С.В., Бахтин Р.Ф. Встречи редких видов пернатых хищников в окрестностях города Бийска, Алтайский край, Россия // Пернатые хищники и их охрана. 2009. № 15. С. 112–113.
8. Важов С.В., Бахтин Р.Ф. Некоторые сведения по экологии гнездования сапсана в северо-алтайских предгорьях // Естественные и технические науки. 2010. № 6 (50). С. 146–148.
9. Важов С.В., Карякин И.В., Николенко Э.Г., Барашкова А.Н., Смелянский И.Э., Томиленко А.А., Бекмансуров Р.Х. Пернатые хищники плато Укок, Россия // Пернатые хищники и их охрана. 2011. № 22. С. 153–175.
10. Важов С.В. Экология и распространение соколообразных и совообразных в предгорьях Алтая: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Алтайский государственный университет. Барнаул, 2012. 231 с.
11. Важов С.В., Важов В.М., Важова Т.И. Биоразнообразие как фактор рекреационного природопользования в особо охраняемых природных территориях // Природопользование на Алтае: агросфера и биоресурсы: сборник научных статей. ГОУВПО «Алтайская государственная академия образования имени В.М. Шукшина», Агротехническая лаборатория; ответственный редактор: В.М. Важов. Бийск, 2012. С. 51–65.
12. Важов С.В., Бахтин Р.Ф., Макаров А.В., Рыбальченко Д.В. Новые данные о гнездовании соколообразных и совообразных в Алтайском крае // Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее: Материалы 3 Международной конференции. Горно-Алтайск, 2013. С. 33–37.
13. Важов С.В., Бахтин Р.Ф. Первый случай гнездования балобана на опоре ЛЭП в Алтайском крае // Актуальные вопросы изучения и охраны животного мира: Труды Тигирекского заповедника. Вып. 7. Барнаул, 2015. С. 247–249.
14. Важов С.В., Бахтин Р.Ф., Байдуков С.Н. К изучению соколообразных и совообразных Кислухинского заказника (Алтайский край) // Алтайский зоологический журнал: Вып. 9. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2015. С. 59–61.
15. Важов С.В. К изучению сообщества пернатых хищников (Falconiformes, Strigiformes) Большереченского заказника (Алтайский край, Россия) // Современные тенденции развития науки и технологий. 2015. С. 45–48.
16. Важов С.В., Бахтин Р.Ф., Важов В.М. О необходимости внесения краснощекого суслика в Красную Книгу Алтайского края // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 4–2. С. 500–503.
17. Важов С.В., Бахтин Р.Ф., Важов В.М. О статусе некоторых видов птиц в Красной Книге Алтайского края // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 4–2. С. 504–506.

18. Вазов С.В., Бахтин Р.Ф., Вазов В.М. Обоснование внесения серого сурка в Красную книгу Алтайского края // Новая наука: стратегии и векторы развития: Международное научно-периодическое издание по итогам Международной научно-практической конференции. В 2 ч. Ч.2. Стерлитамак: РИЦ АМИ, 2016. С. 3–5.
19. Вазов С.В., Бахтин Р.Ф., Вазов В.М. О необходимости внесения лесостепного сурка в Красную Книгу Алтайского края // Современные тенденции развития науки и технологий. 2016. № 3–1. С. 55–57.
20. Вазова Е.В. Пейзаж в жанровых произведениях алтайского народного художника Г.Ф. Борунова // Современные проблемы науки и образования. 2009. №3. С. 134–137.
21. Вазова Е.В. Природа в творчестве художников Алтая (на примере произведений Борунова Г.Ф., Филонова Ф.А., Иванова Н.П.) // Природопользование на Алтае: агро-сфера и биоресурсы: сборник научных статей. ГОУВПО «Алтайская государственная академия образования имени В. М. Шукшина», Агротехническая лаборатория; ответственный редактор: В.М. Вазов. Бийск, 2012. С. 65–69.
22. Галушин В.М. Хищные птицы леса. М.: Лесная промышленность, 1980. С. 77–86.
23. Дементьев Г.П., Мекленбурцев Р.Н., Судилковская А.М. Птицы Советского Союза. Т.1. М.: Советская наука, 1951. 652 с.
24. Карякин И.В. Пернатые хищники Уральского региона. Соколообразные (Falconiformes), Собообразные (Strigiformes). Пермь: ЦПИ СОЖУрала / СоЭС, 1998. 483 с.
25. Карякин И.В. Пернатые хищники (методические рекомендации по изучению соколообразных и совообразных). Нижний Новгород: Поволжье, 2004. 351 с.
26. Карякин И.В., Смелянский И.Э. Горная Колывань (АЛ–031). Ключевые орнитологические территории России. Т.2. Ключевые орнитологические территории международного значения в Западной Сибири. М., 2006. С. 233.
27. Карякин И.В., Николенко Э.Г. Сапсан в Алтае–Саянском регионе, Россия // Пернатые хищники и их охрана, 2009. №16. С. 96–128.
28. Карякин И.В., Николенко Э.Г., Вазов С.В., Митрофанов О.Б. Результаты мониторинга популяции балобана в Алтае–Саянском регионе в 2009–2010 годах, Россия // Пернатые хищники и их охрана. 2010. № 19. С. 136–151.
29. Карякин И.В., Николенко Э.Г. Результаты проекта по выделению зон особой охраны в борových заказниках Алтайского края на основании данных мониторинга мест гнездования пернатых хищников, Россия // Пернатые хищники и их охрана. 2015. № 31. С. 75–102.
30. Карякин И.В., Бекмансуров Р.Х., Бабушкин М.В., Вазов С.В., Бахтин Р.Ф., Николенко Э.Г., Шнайдер Е.П., Пименов В.Н. Результаты работы Центра кольцевания хищных птиц Российской сети изучения и охраны пернатых хищников в 2014 году // Пернатые хищники и их охрана. 2015. № 30. С. 31–61.
31. Красная книга Российской Федерации (животные). М: АСТ, Астрель, 2001. 863 с.
32. Красная книга Алтайского края. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных. Т.2. Барнаул: ОАО «ИПП «Алтай», 2006. 211 с.
33. Красная книга Республики Алтай: Животные. Горно-Алтайск, 2007. 399 с.
34. Кучин А.П. Дневные хищные птицы и совы Верхнего Приобья: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Л., 1966. 23 с.
35. Кучин А.П. Птицы Алтая. Барнаул, 1976. 232 с.
36. Кучин А.П. Флора и фауна Алтая. Горно–Алтайск, 2001. 264 с.
37. Кучин А.П. Птицы Алтая. Горно–Алтайск, 2004. 778 с.
38. Полежаев А.В. К изучению балобана в Алтайском крае Falco cherrug J.E. Gray, 1834 // Современные тенденции развития науки и технологий. 2016. №11–1. С. 116–119.
39. Полежаев А.В. К изучению сапсана Falco peregrinus Tunstall, 1771 на Алтае // Таврический научный обозреватель. 2016. №11 (16). Ч. 2. С. 56–59 [электронный ресурс]. – URL: <http://tavr.science/stat/2016/11/TNO-16-2.pdf> (дата обращения: 02.01.2017).
40. Русанов Г.Г., Вазов С.В., Бахтин Р.Ф. Колыванское озеро: происхождение, геоморфология, экология. Бийск: ФГБОУ ВО «АГПУ», 2016. 168 с.
41. Рябицев В.К. Птицы Урала, Приуралья и Западной Сибири: справ. – определитель. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2008. 634 с.
42. Смелянский И.Э. Алтайский край – будущее одного из крупнейших российских очагов разнообразия пернатых хищников зависит от природоохранных мер // Пернатые хищники и их охрана. 2005. №3. С. 18–27.
43. Степанян Л.С. Состав и распространение птиц фауны СССР. М.: Наука, 1975. 367 с.
44. Сушкин П.П. Птицы Советского Алтая и прилегающих частей Северо–Западной Монголии. М.–Л., 1938. Т. 1. 320 с.
45. Яськов М.И. Проблемы опустынивания, фитомелиорации и кормопроизводства аридных территорий высокогорий Алтая. Горно–Алтайск: РИО ГАГУ, 2015. 248 с.
46. Odum E.P. Fundamentals of Ecology: 3rd ed. Philadelphia–London–Toronto: W.B. Saunders Company. 1971. PP: 574.
47. Vazhov S.V. Specifics of Spatial Distribution of Nests of Some Species of the Falconiformes and Strigiformes in Strip-Like Pine Forests of Priobskoye Plateau (Altai Kray, Russia) // Middle–East Journal of Scientific Research. 16 (11): 1606–1612, 2013.
48. Vazhov S.V. Distribution and abundance of carnivorous birds (Falconiformes, Strigiformes) in the valley of the BolshayaRechka River (the “Bolsherechensky” state reserve, the Altai Territory, Russia) // Biosciences Biotechnology Research Asia. 12(2): 1495–1502, 2015.
49. Vazhov S.V., Bakhtin R.F., Vazhov V.M. Ecology of Some Species of Owls in Agricultural Landscapes of the Altai Region // Ecology, Environment and Conservation. 22 (3): 1555–1563, 2016.
50. Whittaker R.H. Communities and Ecosystems. 2nd ed. New York: Macmillan Publishing Co., Inc., 1975. PP: 385.

УДК 581.5:57.084.2:574.24

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ НА ПОПУЛЯЦИИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПРОИЗРАСТАЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИЯХ, ПОДВЕРГШИХСЯ РАДИОАКТИВНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Васильев Д.В., Кузьменков А.Г., Дикарева Н.С., Гераськин С.А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и экологии, Обнинск, e-mail: treworqwert@mail.ru

Представлены результаты многолетних (2003-2014 гг.) наблюдений за состоянием семенного потомства в популяциях сосны обыкновенной, населяющих участки в Брянской области, подвергшиеся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Частота цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян сосны с загрязненных радионуклидами участков статистически значимо превышала контрольный уровень в течение всех двенадцати лет наблюдения. Не выявлено определенной связи качества семенного потомства и его устойчивости к дополнительному облучению с уровнем радиоактивного загрязнения участков или поглощенной в генеративных органах сосны дозой. Формирующиеся в условиях хронического облучения семена характеризуются высокой межгодовой изменчивостью показателей жизнеспособности, которая в значительной степени определяется погодными условиями.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, авария на Чернобыльской АЭС, радиоактивное загрязнение, поглощенные дозы, цитогенетика, качество семян, погодные условия

INFLUENCE OF THE CHRONIC IRRADIATION AND WEATHER CONDITIONS ON POPULATIONS OF THE SCOTS PINE GROWING IN TERRITORIES, HAVE UNDERGONE TO RADIOACTIVE POLLUTION

Vasilyev D.V., Kuzmenkov A.G., Dikareva N.S., Geras'kin S.A.

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, e-mail: treworqwert@mail.ru

Results long-term (2003-2014) supervision over a condition of seed posterity in populations of a pine ordinary, occupying sites in Bryansk area, with radioactive pollution as a result of accident on the Chernobyl atomic power station are presented. Frequency of cytogenetic infringements in root meristems sprouts of seeds of a pine with polluted radionuclides sites statistically significantly exceeded a test objective level within all twelve years of supervision. It is not revealed certain communication of quality of seed posterity and its stability to an additional irradiation with level of radioactive pollution of sites or absorbed in reproductive organs of a pine a dose. Seeds formed in the conditions of a chronic irradiation are characterised by high interannual variability of indicators of viability, which is substantially defined by weather conditions.

Keywords: Scots pine, Chernobyl accident, Radioactive contamination, Radioactive pollution, Absorbed doses, Cytogenetics, Quality of seeds, Weather conditions

В настоящее время общепризнано, что система нормирования радиационного воздействия на биоту должна ориентироваться на защиту популяций [18]. Для эффективного нормирования антропогенного воздействия на популяционном уровне необходимо учитывать, что популяция это сложная иерархическая система, в которой животные и растения испытывают воздействие комплекса естественных и антропогенных факторов. Поэтому для понимания степени опасности того или иного фактора необходимо представлять как он влияет на живые организмы во взаимодействии с другими факторами окружающей среды, как эти влияния проявляются на разных уровнях организации живого, какова динамика вызываемых им биологических процессов. Для этого необходимы комплексные, долговременные наблюдения за растениями и животными в естественных условиях их

обитания, однако подобных исследований в настоящее время крайне мало. Это порождает острый дефицит информации о радиационно-индуцированных эффектах у представителей живой природы в условиях хронического облучения в естественной среде их обитания [10, 11]. Особенно актуальны такие исследования для лесов на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Только в Российской Федерации радиоактивному загрязнению подверглось около 1 млн. гектаров земель лесного фонда [13]. Особую важность такого рода исследования придает тот факт, что хроническое техногенное воздействие даже в низких дозах способно влиять на такие важные для существования популяции параметры как состояние и репродуктивная способность составляющих ее индивидов [5, 19, 20, 21].

Наша лаборатория с 2003 года по настоящее время проводит комплексное изучение биологических эффектов в популяциях сосны обыкновенной на шести участках Брянской области [15, 17]. Целью настоящей работы является оценка цитогенетических эффектов и репродуктивной способности популяций сосны обыкновенной в отдалённый период после аварии на Чернобыльской АЭС.

Материалы и методы

На протяжении двенадцати лет исследовали шесть популяций сосны (*Pinus sylvestris* L.) из Брянской области. В качестве тест объекта сосна обыкновенная была выбрана потому, что это основной лесобразующий вид эдификатор Северной Евразии. Обладая высокой радиочувствительностью, она стала одним из референтных биологических видов, на которых базируется современная концепция радиационной защиты окружающей среды [18]. К воздействию ионизирующих излучений у сосны наиболее чувствительны репродуктивные органы, отличающиеся сложностью организации и длительностью генеративного цикла (с момента закладки примордиев генеративных органов до созревания семян проходит 28 месяцев [7]). В условиях хронического действия техногенных факторов столь длительный цикл развития ведёт к накоплению в неспециализированных инициальных клетках семян достаточного для индикации внешнего воздействия количества повреждений ДНК, реализация которых в аберрации происходит главным образом в первом митозе [16].

Исследовали популяции, произрастающие на контрольных участках: К; К1 и загрязнённых радионуклидами участках, находящиеся в 200-250 км от Чернобыльской АЭС: ВИУА (ВИУА); Старые Бобовичи (СБ); Заборье поле (ЗП); Заборье кладбище (ЗК). Все участки характеризуются высоким представительством сосновых деревьев в фитоценозе, однородностью физико-химических свойств почв, а также уровнем техногенного загрязнения (рис. 1).

На экспериментальных участках брали пробы почв и собирали шишки. Образцы почвы на каждом участке отбирали по слоям 0-5 см, 5-10 см, 10-15 см в нескольких местах под кроной деревьев, где была зафиксирована максимальная на участке мощность дозы. Почву высушивали до воздушно-сухого состояния, измельчали и просеивали через сито с размером отверстий 1 мм. Шишки собирали с деревьев 30-50-летнего возраста в ноябре – начале декабря 2003-2014 гг. На каждом участке шишки

собирали с 20-29 деревьев в пределах гомогенного древостоя по 20-50 шишек с каждого дерева на высоте 1.5-2 м от поверхности земли. Для дозревания и стратификации шишки выдерживали вне помещения до конца февраля. Затем их доставляли в лабораторию и хранили при комнатной температуре и низкой влажности до раскрытия и высывания семян, которые обескрыливали вручную. Для исследований использовали только свободно высывавшиеся, хорошо выполненные семена.



Рис. 1. Расположение экспериментальных участков

В образцах почвы и шишках определяли активность ¹³⁷Cs, методом g-спектрометрии на многоканальном анализаторе IN-1200 (Франция) с германиевым детектором GEM-1200 (США). Также в шишках определяли содержание ⁹⁰Sr радиохимическим методом.

Данные по метеоусловиям на экспериментальных участках были предоставлены ВНИИ гидрометеорологической информации – Мировым Центром Данных (ВНИИГМИ МЦД, г. Обнинск). Использовали данные четырех ближайших к экспериментальным участкам метеостанций, расположенных в населенных пунктах Брянск (К), Унеча (К1), Трубчевск (ВИУА и СБ) и Красная Горка (ЗП и ЗК).

Для оценки репродуктивной способности визуально определяли число нормальных и abortивных (недоразвитые, пустые, сухие) семян на шишку (урожай 2007-2014 гг.). При проращивании семян урожая 2008-2014 гг. оценивали их всхожесть (как процент нормально развитых проростков на 20-тый день). Перед проращиванием, для синхронизации деления, семена выдерживали сутки в холодильнике при температуре 4°C, затем проращивали в термостате при 24°C в чашках Петри на смоченной дистил-

лированной водой фильтровальной бумаге. Эксперимент проводили в 4 повторностях, по 50 семян в каждой.

Для цитогенетического анализа использовали проростки семян с корешками длиной 7-10 миллиметров, когда наблюдается пик первых митозов [16]. Корешки фиксировали в ацето-алкоголе (1:3), окрашивали ацетоорсеином и готовили временные давленные препараты. Все препараты кодировали. В каждом из 20-100 препаратов анализировали все ана-телофазные клетки (4400-14000 ана-телофаз на вариант опыта) и рассчитывали долю клеток с цитогенетическими нарушениями. При анализе спектра нарушений выделяли хроматидные (одиночные) и хромосомные (двойные) мосты и фрагменты, многополюсные митозы, а также отстаивания хромосом. Отметим, что анафазным методом в клетках корневой меристемы проростков регистрируются нарушения, возникшие в период от образования гамет до созревания и сбора семян, поскольку индуцированные на вегетативной стадии (до цветения) перестройки хромосом элиминируются в мейозе за исключением не регистрируемых этим методом симметричных транслокаций и инверсий.

Часть собранных в 2003, 2004, 2006 и 2013гг. семян подвергли острому γ -облучению в дозе 15 Гр с мощностью дозы 0,6 Гр/мин от источника ^{60}Co (установка «Луч», Латвия). Сразу после облучения семена проращивали и определяли частоту цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков. В зависимости от года и участка анализировали от 10 до 24 препаратов (1000-4500 ана-телофаз) на вариант опыта.

Экспериментальные данные проверяли на наличие выбросов по критерию Диксона. Выбросы исключали из дальнейшего рассмотрения. Данные обрабатывали мето-

дами вариационной статистики с использованием MS Excel. Для оптимизации объема выборки применяли методику статистического анализа эмпирических распределений [4]. Достоверность отличий оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Почвы всех исследованных участков близки по физико-химическим свойствам, а содержание тяжелых металлов и доступных растениям их подвижных форм не превышает допустимых уровней [3, 17]. Качественно иная картина имеет место в отношении радиоактивного загрязнения участков, основной вклад в которое вносит ^{137}Cs – ведущий дозообразующий радионуклид на загрязненных в результате аварии на Чернобыльской АЭС территориях. Поскольку период полураспада ^{137}Cs составляет 30 лет, радиоактивное загрязнение участков за период исследования изменилось незначительно. Поэтому в табл. 1 представлены данные о радиоактивном загрязнении участков за один конкретный (2013) год.

Содержание ^{137}Cs в верхнем 5-см слое почвы изменяется в широком диапазоне и на импактных участках значительно выше, чем в контроле. Отметим, что удельная активность ^{137}Cs в почвах контрольных участков К и К1 различается в два раза, однако эти колебания лежат в пределах, характерных для региона, и обусловлены глобальными выпадениями ^{137}Cs [2].

Содержание радионуклидов в шишках деревьев импактных участков статистически значимо превышает этот параметр для контрольных популяций (табл. 1). Причем содержание ^{137}Cs в шишках во всех случаях выше содержания ^{90}Sr как минимум на порядок. Максимальные удельные активности ^{137}Cs и ^{90}Sr в шишках импактных участков

Таблица 1

Удельная активность радионуклидов и дозы (внешнее и внутреннее облучение) поглощённые короной сосны (включая естественный радиационный фон).

Участок	Удельная активность, Бк/кг			Доза, поглощенная кроной в 2013 году, мГр/г.	Доза, поглощенная кроной за период формирования семян (2012-2013 год), мГр
	шишки		Почва (верхний 5-см слой)		
	^{137}Cs	^{90}Sr			
К	4,2	1,12	13,2	0.90	1.81
К1	12,6	0,79	156	1.11	2.22
ВИУА	207	11,34	10800	10.9	21.8
СБ	302	35,91	13000	20.3	40.6
ЗП	2170	43,22	35600	34.0	68.0
ЗК	1420	48,69	46200	39.5	79.0

существенно превышают аналогичные показатели для контрольных участков.

Для оценки дозовых нагрузок на крону и генеративные органы изучаемых популяций сосны от внешнего и внутреннего облучения, была разработана дозиметрическая модель, подробное описание которой дано в [17]. Согласно расчетам, дозовая нагрузка на кроны сосновых деревьев находится в диапазоне 10.9–39.5 мГр/г. (табл. 1).

В популяциях, населяющих загрязнённые радионуклидами участки, частота цитогенетических нарушений статистически значимо превышает (рис. 2) соответствующие контрольные значения на протяжении всех лет исследования (2003–2014). Максимальная частота aberrантных клеток зафиксирована в проростках с участков ЗП и ЗК, характеризующихся наибольшими значениями поглощенных репродуктивными органами сосны доз.

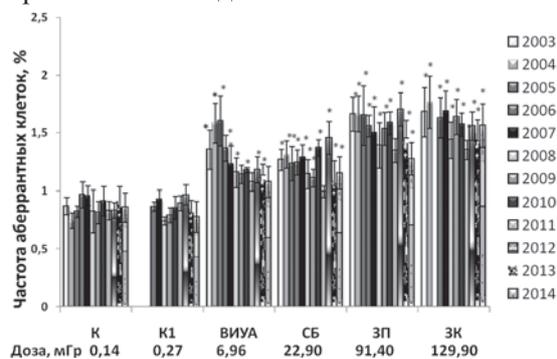


Рис. 2. Частота цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян.

* - отличие от к и к1 значимо

Более того, на протяжении практически всех лет исследования наблюдалась статистически значимая корреляция ($r=0.70-0.99$; $p<1\%$) между частотой aberrантных клеток в проростках семян и мощностью экспозиционной дозы на участке.

Частота цитогенетических нарушений в 2006–2014 гг. статистически значимо возрастала с увеличением поглощенной дозы ($r = 0.81-0.94$; $p < 0.05$), а в 2007–2011 гг. и удельной активности 137

Cs в верхнем слое почвы ($r = 0.77-0.89$; $p < 0.05$). В 2003–2005 и 2014 гг. частота цитогенетических нарушений также увеличивалась с дозой, однако эта зависимость не была статистически значимой.

Анализ спектра цитогенетических нарушений показал, что в популяциях сосны, населяющих наиболее загрязненные радионуклидами участки – ЗП и ЗК – частота маркеров радиационного воздействия (aberrаций хромосомного типа) и митотических аномалий (отставаний хромосом и многопо-

люсных митозов) значительно превышала контрольный уровень на протяжении всех лет исследования. Причем в большинстве случаев это различие было статистически значимым.

При длительном воздействии неблагоприятного фактора популяция может к нему адаптироваться. Выявить наличие адаптации к действию радиационного фактора можно при помощи дополнительного облучения высокой дозой [6, 12, 14]. Часть собранных в 2003, 2004, 2006 и 2013 гг. семян перед проращиванием была подвергнута острому g-облучению. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии увеличения радиоустойчивости в популяциях сосны, длительное время развивавшихся в условиях низкодозового хронического облучения (рис. 3).

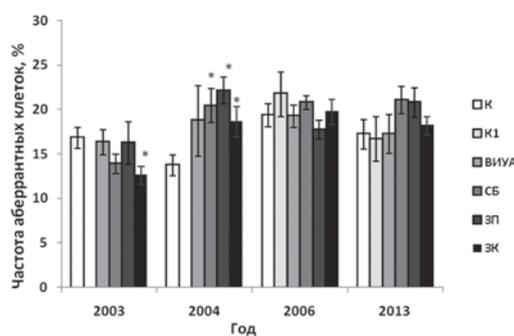


Рис. 3. Частота цитогенетических нарушений в корневой меристеме проростков семян подвергшихся дополнительному острому g-облучению. * - отличие от к и к1 значимо

Эффект радиоадаптации в природных популяциях растений неоднократно был показан в исследованиях на ВУРСе и в 30-км зоне ЧАЭС [11, 14]. В том числе, и на семенах сосны. В тоже время, есть немало примеров, когда повышение радиоустойчивости в подвергающихся хроническому воздействию популяциях растений не происходит [1, 10]. Таким образом, скорость и сама возможность формирования этого признака могут существенно различаться в разных экологических условиях.

При анализе представленных данных возникает вопрос: как выявленный в нашем исследовании повышенный уровень мутагенеза в популяциях сосны, развивающихся в условиях хронического облучения, проявляется на более высоких уровнях организации живого, в том числе на показателях жизнеспособности? Анализ качества семян не выявил взаимосвязи между долей abortивных семян и величиной радиационной нагрузки. Всхожесть семян, хотя и характеризовалась значительно большим

разбросом значений, что проявилось в наличии статистически значимых отличий от контроля, также не проявляла зависимости от величины радиационного воздействия ($p > 5\%$) (рис. 4 и 5).

Поскольку нам не удалось обнаружить связи качества семян с поглощенными ими дозами, а загрязнение участков тяжелыми металлами не превышает допустимых уровней [17], логично предположить, что наблюдаемая изменчивость изучаемых параметров определяется другими факторами. В отдаленный период после радиационных аварий, когда, вследствие радиоактивного распада, радиационная нагрузка на растения существенно снизилась, на первый план по силе влияния выходят иные факторы, среди которых важное место занимают метеорологические условия в период формирования семян [8, 9].

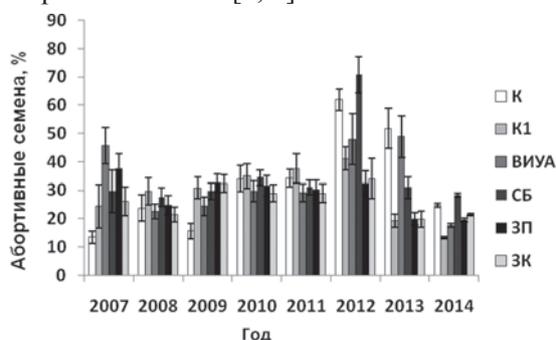


Рис. 4. Количество абортивных семян.

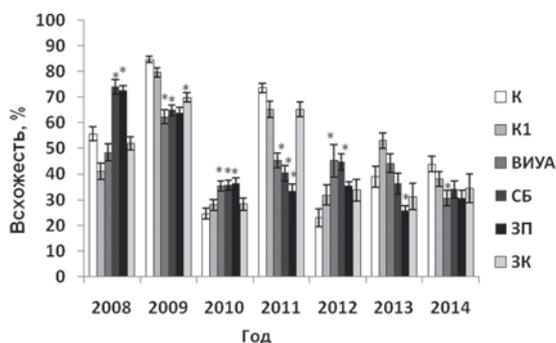


Рис. 5. Всхожесть семян. * - отличие от к и к1 значимо

Действительно, анализ зависимости показателей качества семян от погодных условий выявил в ряде случаев наличие статистически значимых корреляций (табл. 2), согласно которым повышенные температуры в течение всего периода развития семян и в августе второго года их развития снижают всхожесть, а в мае первого года (когда происходит опыление) снижают количество абортивных семян. Большое количество осадков, напротив, снижает всхожесть се-

мян при воздействии в течение всего периода их развития, а в мае первого года развития увеличивает количество абортивных семян. Отметим, что, в отличие от представленных в [10] результатов, нам не удалось установить различий в реакции на погодные условия растений из хронически облучаемых и контрольных популяций. Это может быть связано с различием радиэкологических условий на ВУРСе и чернобыльском следе, кардинальными различиями в биологии рассматривавшихся в этих работах видов растений, а также недостаточным объемом имеющихся у нас экспериментальных данных.

Таблица 2

Статистически значимые корреляции показателей качества семян с погодными условиями

Вариант	Количество абортивных семян		Всхожесть	
	ΣP	Tav ef	ΣP	Tav ef
2 года				
СБ				-0,84
ЗП				-0,88
ЗК			-0,86	
Май первого года развития семян				
СБ				
ЗП	0,77	-0,89	-	
Август второго года развития семян				
К				-0,80

Tav ef – сумма эффективных температур, ΣP – сумма осадков, D – число дней с эффективной температурой ($t > 5^\circ\text{C}$).

Заключение

Таким образом, в исследованных популяциях сосны обыкновенной формируется семенное потомство с повышенным уровнем цитогенетических нарушений. Сопоставление частоты цитогенетических нарушений с характеристиками радиационной ситуации на экспериментальных участках свидетельствует об увеличении частоты мутаций с ростом радиационной нагрузки. При этом, несмотря на то, что радиационный фактор воздействует на изученные популяции уже не одно десятилетие, признаков радиоадаптации не обнаружено.

Хроническое облучение, вызывая устойчиво воспроизводимую у импактных популяций за время исследования (2003-2014 гг.) повышенную частоту цитогенетических нарушений не оказало существенного влияния на их репродуктивную способность. В настоящее время, спустя 30 лет после аварии на Чернобыльской АЭС, погодные условия оказывают гораздо большее влияние

на качество семян, чем радиоактивное загрязнение.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-14-00666).

Список литературы

1. Антонова Е.В., Позолотина В.Н., Каримуллина Э.М. Изменчивость семенного потомства костреца безостого в условиях хронического облучения зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа // *Экология*. 2014. № 6. С. 459–468.
2. Атлас современных и прогнозных аспектов последствий аварии на Чернобыльской АЭС на пострадавших территориях России и Беларуси (АСПА Россия-Беларусь). Москва-Минск: Инфосфера-НИИ-Природа, 2009. 140 с.
3. Гераскин С.А., Дикарева Н.С., Удалова А.А. и др. Цитогенетические эффекты в популяциях сосны обыкновенной из районов Брянской области, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2008. Т. 48. Вып. 5. С. 584–595.
4. Гераскин С.А., Фесенко С.В., Черняева Л.Г., Санжарова Н.И. Статистические методы анализа эмпирических распределений коэффициентов накопления радионуклидов растениями // *Сельскохозяйственная биология*. 1994. № 1. С. 130–137.
5. Дмитриев А.П., Гродзинский Д.М., Гуша И.И., Крыжановская М.С. Влияние хронического облучения на устойчивость растений к биотическому стрессу в 30-километровой зоне отчуждения Чернобыльской АЭС // *Физиология растений*. 2011. Т. 58. №6. С. 922–929.
6. Кальченко В.А., Федотов В.С. Генетические эффекты острого и хронического воздействия ионизирующих излучений на *Pinus sylvestris* L., произрастающих в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС // *Генетика*. 2001. Т. 37. С. 437–447.
7. Козубов Г.М., Таскаев А.И. Радиобиологические и радиоэкологические исследования древесных растений. С.-П.: Наука, 1994. 256 с.
8. Кузнецова Н.Ф. Влияние климатических условий на проявление признака самофертильности у сосны обыкновенной // *Экология*. 2009. Т. 40. № 5. С. 390–395.
9. Носкова Н.Е., Третьякова И.Н. Влияние стресса на репродуктивные способности сосны обыкновенной // *Хвойные бореальной зоны*. 2006. Т. 23. Вып. 1. С. 54–63.
10. Позолотина В.Н., Антонова Е.В., Каримуллина Э.М. и др. Последствия хронического действия радиации для флоры Восточно-уральского радиоактивного следа // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2009. Т. 49. № 1. С. 97–106.
11. Федотов И.С., Кальченко В.А., Игонина Е.В., Рубанович А.В. Радиационно-генетические последствия облучения популяции сосны обыкновенной в зоне аварии на ЧАЭС // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2006. Т. 46. Вып. 3. С. 268–278.
12. Черезанова Л.В., Алексахин Р.М. О биологическом действии повышенного фона ионизирующих излучений и процессах радиоадаптации в популяциях травянистых растений // *Журн. общ. биол.* 1975. Т. 36. № 2. С. 303–311.
13. Чернобыль: экология, человек, здоровье. Научно-практический семинар. Москва, ВВЦ. Сборник материалов. Под общей редакцией Т.А. Марченко – М.: ИБРАЭ РАН, 2006. – 306 с.
14. Шевченко В.А., Печуренков В.Л., Абрамов В.И. Радиационная генетика природных популяций. М.: Наука, 1992. 221 с.
15. Geras'kin S.A., Volkova P.Yu. Genetic diversity in Scots pine populations along a radiation exposure gradient // *Science Total Environment*. 2014. V. 496. P. 317–327.
16. Geras'kin S.A., Zimina L.M., Dikarev V.G. et al. Bioindication of the anthropogenic effects on micropopulation of *Pinus sylvestris* L. in the vicinity of a plant for the storage and processing of radioactive waste and in the Chernobyl NPP zone // *J. Environmental Radioactivity*. 2003. V. 66. P. 171–180.
17. Geras'kin S.A., Oudalova A.A., Dikareva N.S. et al. Effects of radioactive contamination on Scots pines in the remote period after the Chernobyl accident // *Ecotoxicology*. 2011. V. 20. P. 1195–1208.
18. ICRP Publication 108. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. // *Ann. ICRP*, 2009, 38, No. 4–6, P. 1–242.
19. Micieta K., Murin G. Adaptation to the environmental stress as a result of a long term mutagenesis in plants // *Mutagenesis: exploring novel genes and pathways* / Eds N.B. Tomlekova, M.I. Kozgar and M.R. Wani. Wageningen Academic Pbl., P. 379–404. 4. Peterson C.H., Rice S.D., Short J.W. et al. Long term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill // *Science*. 2003. V. 302. P. 2082–2086.
20. Peterson C.H., Rice S.D., Short J.W. et al. Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill // *Science*. 2003. V. 302. P. 2082–2086.
21. Theodorakis C.W. Integration of genotoxic and population genetic endpoints in biomonitoring and risk assessment // *Ecotoxicol*. 2001. V. 10. P. 245–256.

УДК 547

ПРИМЕНЕНИЕ АКТИВНЫХ УГЛЕЙ В ПРОЦЕССАХ ОЧИСТКИ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Джакашева М.А.*Министерство Образования и Науки Республики Казахстан «Южно-Казахстанский государственный университет им. М.Ауэзова», г. Шымкент, e-mail: dzhakasheva_m@mail.ru*

Технологически проработан и апробирован сорбционный метод очистки и выделения пектолитического ферментного препарата из культуральной жидкости штамма *Aspergillus awamori* 56-2-53-85-375, полученного в результате многоступенчатой селекции. Адсорбционная очистка с помощью микропористого активированного угля марки КАД-Г позволяет проводить очистку и выделение пектиназы при минимальном снижении общей активности ферментных растворов. Активный уголь имеет сильно развитую пористую структуру, образованную главным образом мезопорами от 0,8-0,2 мл/г в диаметре. При дозировке сорбента 10 г/л достигается степень очистки по цветности 63%, удельная активность пектиназы увеличивается до 97,5% при потере активности 4,8%. Обесцвечивание пектолитических ферментных растворов и удаление низкомолекулярных неактивных примесей делает возможным его использование на начальном этапе очистки.

Ключевые слова: пектиназа, *Aspergillus awamori*, очистка, выделение, активированный уголь, культуральная жидкость

THE USE OF ACTIVE CARBONS IN THE PROCESS OF PURIFICATION PECTOLYTIC ENZYMES

Dzhakasheva M.A.*The Ministry of Education and Science of the Republic Kazakhstan "M. Auezov South-Kazakhstan state university", Shymkent, e-mail: dzhakasheva_m@mail.ru*

As a consequence of development of method of purification and extraction of pectolytic enzyme from culture liquid of *Aspergillus awamori* 56-2-53-85-375, the resulting of the gradation screening. Using adsorptive purification by microporous charcoal enzyme solutions of pectinase were extracted with minimum decrease in total activity. The application of porous coal with the aim of discoloration of enzyme solutions and purification of culture liquids from pectic substances is efficient at the first stage. Active carbon has a highly developed porous structure formed mainly of mesopores between 0.8-0.2 ml/g in diameter. At 10 g/l of sorbent, the purification degree in terms of color index is 63%, and the specific activity of pectinase increases to 97.5% at the activity loss of 4.8%.

Keywords: pectinase, *Aspergillus awamori*, purification, extraction, activated coal, culture fluid

Пектиназы – это ферменты, катализирующие реакции расщепления пектиновых веществ, которые имеют большое промышленное значение в плодopерерабатывающей промышленности [6]. Это обусловлено тем, что пектиназа – это не один фермент, а комплекс, состоящий из нескольких пектин-расщепляющих веществ: пектинэстеразы, полигалактуроназы, пектинлиазы и пектатлиазы. Кроме того, промышленные пектиназы не являются чистыми ферментными препаратами и обычно обладают побочной активностью, которая проявляется в том, что пектиназы могут выполнять функции целлюлазы, гемицеллюлазы, β-глюканазы, β-глюкозидазы и протеазы [3,7].

Культуральные жидкости, полученные после ферментации микроорганизмов – продуцентов пектолитических ферментов, содержат значительное количество нерастворимых примесей. Существует множество способов выделения и очистки ферментов из культуральной жидкости и растворов технических ферментных препаратов, сущностью которых является разделение многокомпонентных смесей ор-

ганических веществ и минеральных солей для удаления основной массы неактивных белков и примесей небелковой природы. Наличие в ферментном препарате примесей углеводов и пектиновых веществ может существенно образом исказить результаты анализа состава продуктов ферментализации пектиновых полисахаридов и затруднить выделение физиологически активных фрагментов [1]. Поэтому разработка способов получения очищенных и активных пектолитических ферментов является весьма актуальной.

Материалы и методы исследований

Культура мицелиального гриба *A. awamori* 56-2-53-85-375 получена в результате многоступенчатой селекции и мутагенеза на кафедре биотехнологии Южно-Казахстанского государственного университета им. М. Ауэзова, она поддерживается на скошенном сусло-агаре при 40С [4].

Активность пектолитического комплекса ферментов определяли по методике действующего ГОСТ Р 55298-2012. Мицелий,

полученный в процессе культивирования *A. awamori* 56-2-53-85-375, отделяли от культуральной жидкости на фильтре и затем подвергали водной экстракции.

Потери активности ферментных растворов рассчитывали по отношению разности между исходной и конечной активностью пектиназы к исходной ее величине и выражали в процентах. Содержание белка определяли по методу Лоури [5].

Пектиназы выделяли и очищали из культуральной жидкости, полученной после культивирования штамма *A. awamori* 56-2-53-85-375 в конусообразных колбах Эрленмейера объемом 250 мл на термостатированной качалке (220 об/мин) при температуре 30° С с рН 3,2 в течение 84 ч на жидкой питательной среде следующего состава, масс. %: свекловичный жом : виноградные выжимки : хлопковые створки (1:1:1) - 3, лактоза – 0,125, солодовые

ростки : экстракт из мицелия (1:1) – 1%, (NH₄)₂SO₄ – 0,5, KH₂PO₄ – 0,2, MgSO₄– 0,1[2].

Активированные угли для очистки культуральной жидкости предварительно размалывали и фракционировали путем просеивания на ситах до получения гранул от 100 до 280 мкм. К культуральной жидкости объемом 1000 мл при 40°С добавляли микропористые угли, смесь тщательно перемешивали на магнитной мешалке в течение 30 мин, после чего сорбент отделяли фильтрованием под вакуумом водокольцевого вакуумного насоса «Dolphin LC 0030 A» («Busch», Германия). В фильтрате проверяли содержание белка и пектиназную активность. Оценку содержания пектиновых веществ в культуральных жидкостях осуществляли по цветности растворов путем измерения оптической плотности на фотокориметре КФК-2 при длине волны 315 нм. Степень

Таблица

Влияние условий обработки культуральной жидкости активированными углями

Марка угля	Условия обработки	Значение	Удельная активность, ед/мг белка	Степень очистки по цветности, %	Потери активности ПкС, %		
СКТ	рН культуральной жидкости	3,0	77,0	63	0,5		
		3,5	81,0	65	1,5		
		4,0	80,8	64	2,8		
		4,5	76,0	57	3,0		
		5,0	71,3	50	4,5		
		5,5	63,4	44	6,3		
	Дозировка сорбента, г/л	5	65,0	48	4,0		
		10	82,0	54	6,5		
		15	81,4	61	22,0		
		20	78,0	66	28,0		
БАУ-Б	рН культуральной жидкости	3,0	91,2	70	1,0		
		3,5	95,0	71	2,5		
		4,0	91,8	68	4,4		
		4,5	85,0	64	6,8		
		5,0	77,0	52	9,0		
		5,5	63,0	44	14,3		
		Дозировка сорбента, г/л	5	73,0	50	20,0	
	10		89,4	54	25,0		
	15		85,5	59	37,0		
	20		79,0	67	42,0		
	КАД-Г		рН культуральной жидкости	3,0	90,1	75	0,3
				3,5	94,0	75	0,8
				4,0	90,8	73	1,5
		4,5		88,0	70	1,8	
5,0		85,3		60	3,0		
5,5		81,0		50	5,6		
Дозировка сорбента, г/л		5	83,0	54	2		
		10	97,5	63	4,8		
		15	91,4	70	18		
		20	95,0	77	25		

очистки по цветности оценивали как отношение разности между исходной и конечной активностью пектиназы к исходной ее величине и выражали в процентах.

Оценку результатов и их статистической достоверности осуществляли с использованием прикладных программ «MathCAD» и «Statistica».

Результаты и обсуждение

Для удаления из культуральной жидкости *A. awamori* 56-2-53-85-375 низкомолекулярных примесей, таких как пектиновые вещества, использовали активированные микропористые угли марок СКТ, БАУ-Б и КАД-Г с размерами гранул от 100 до 280 мкм, который предварительно размалывали и фракционировали путем просеивания на ситах. Активированные угли представляют собой пористый углеродный адсорбент с развитой внутренней поверхностью, состоящей из открытых пор и капиллярных каналов объемом 0,23-0,26 мл/г. В таблице показаны зависимость степени очистки по цветности от значений рН среды при обработке культуральной жидкости, полученной после культивирования мицелиального гриба *A. awamori* 56-2-53-85-375 активированными углями марок СКТ, БАУ-Б и КАД-Г и их дозировок.

Из полученных данных видно, что в диапазоне рН среды 3,0-3,5 для всех выбранных марок активированных микропористых углей достигается наибольшая эффективность очистки ферментных растворов. Из данных таблицы 1 видно, что при оптимальном значении рН среды влияние дозировки сорбентов в культуральной жидкости на эффективность очистки является прямопропорциональным. Высокая эффективность при обесцвечивании и очистке растворов наблюдается при использовании угля марки КАД-Г с дозировкой 10 г/л.

Уголь активированный КАД-Г обычно применяют для очистки от органических

загрязнений сточных вод при производстве гальванических покрытий, а также для очистки оборотных и технологических вод. Его основные характеристики: размер зерен, мм - 1,0-2,8, насыпная плотность, г/дм³ - < 460, прочность, % - >70, объем пор суммарный, см³/г - >0,7, объем микропор, см³/г - 0,23-0,26, адсорбционная способность, % - 60-62. Массовая доля золы, % - 10-12.

Заключение

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что применение микропористого угля марки КАД-Г для обесцвечивания ферментных растворов и очистки культуральной жидкости от пектиновых веществ на первом этапе является эффективным. При дозировке сорбента 10 г/л достигается степень очистки по цветности 63%, удельная активность пектиназы увеличивается до 97,5% при потере активности 4,8%.

Список литературы

1. Донцов А.Г., Шубаков А.А. Пектинолитические ферменты: очистка, активация, микробиологический синтез. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2010. - С. 82-90.
2. Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Есимова А.М. Культивирование штамма *Aspergillus awamori* 56-2-53-85-375 – продуцента пектиназы // Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2016. – №2. – С.77-84.
3. Ajayi A.A., Osunlalu E.O., Peter-Albert C.F., Adejuwon A.O. Studies on pectinolytic and proteolytic enzymes from deteriorated grapes (*Vitis vinifera*) // Covenant Journal of Physical and Life Sciences. - 2014. - Vol. 1. - № 2. - P. 1-15.
4. Dzhakasheva M.A., Kedelbayev B.S. Getting the active strain of *Aspergillus awamori* – pectinase producer // International journal of applied and fundamental research. - 2014. - № 11(4). - P.593-597.
5. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Fan A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem., - 1951. - Vol. 193. - P. 265-275.
6. Sunnotel O., Nigam P. Pectinolytic activity of bacteria isolated from soil and two fungal strains during submerged fermentation // World Journal of microbiology and Biotechnology. - 2002. - №18. - P. 835-839.
7. Uhlig H. Industrial enzymes and their applications. A Wiley-Interscience Publication. John Wiley & Sons, Inc., 1998. - P. 139-141.

УДК 341:615.017

ДОПИНГ: БИОЛОГО-ПРАВОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**Иглин А.В.***Московский финансово-юридический университет (МФЮА), e-mail: iglin-AV@list.ru*

Статья посвящена изучению допинга как фармакологических препаратов, методам и процедурам, используемым с целью стимуляции физической и психической работоспособности и достижения благодаря этому высокого спортивного результата. С новых медико-правовых позиций исследуются различные стимулирующие вещества и их употребление спортсменами для улучшения результатов в соревновательной деятельности. Автор, указывает, что бремя доказывания употребления допинга претерпевает изменения и в настоящее время возложено на антидопинговую организацию (ВАДА), изменен порядок принятия решения по допингу и его апелляции. В статье обосновано, что необходимо закрепить не только нормы ответственности за употребление допинга спортсменами, но и ряд медицинских правил сопровождения спортивных соревнований, при этом необходимо создать устойчивый правопорядок в физической культуре и спорте; медицинские нормы целесообразно интегрировать в правовые и унифицировать с указанными стандартами международных спортивных организаций.

Ключевые слова: физкультурно-спортивные отношения, стимуляторы, допинг, МОК, ВАДА, ЮНЕСКО, спортивные санкции, спортивное право, спортсмены, соревнования, дисквалификация

DOPE: BIOLOGO-LEGAL RESEARCH**Iglin A.V.***Moscow financial and legal university (MFUA), e-mail: iglin-AV@list.ru*

Article is devoted to dope studying as pharmacological medicines, to the methods and procedures used for the purpose of stimulation of physical and mental working capacity and achievement thanks to it high sports result. From new medico-legal positions various stimulating substances and their use by athletes for improvement of results in competitive activity are investigated. The author, specifies that the burden of proof of the use of dope undergoes changes and now is assigned to the anti-doping organization (WADA), the decision-making order on dope and its appeal is changed. In article it is proved that it is necessary to enshrine not only provisions of responsibility for the dope use by athletes, but also a number of medical rules of maintenance of sports competitions, at the same time it is necessary to create steady law and order in physical culture and sport; it is expedient to integrate medical norms into legal and to unify with the specified standards of the international sports organizations.

Keywords: sports relations, stimulators, dope, IOC, WADA, UNESCO, sports sanctions, sports law, athletes, competitions, disqualification

Цель: биолого-правовое изучение и обобщение комплекса биостимуляторов и допинга с точки зрения их влияния на подготовку профессиональных спортсменов к официальным соревнованиям.

Методы: диалектический подход к познанию биолого-правовых явлений, позволяющий проанализировать их в теоретическом и практическом развитии и функционировании в контексте совокупности объективных и субъективных факторов. Сравнительно-правовой и медико-биологический аналитический методы, диалектика определили выбор конкретных методов исследования: компаративного и синергетического.

Результаты: на основе анализа нормативных актов, содержащих перечни запрещенных для спортсменов препаратов, а также механизмы выявления и борьбы с допингом, рассмотрены комплексные проблемы спортивного и медицинского права, выявленные в ходе глубокого изучения практики ВАДА и других специализированных антидопинговых организаций и пред-

ложены теоретические и практические пути решения этих проблем.

Научная новизна: в статье впервые на основе использования комплекса классических и постклассических методов исследована роль допинга во всех его биолого-правовых проявлениях в системе современных спортивных отношений, как на национальном, так и на международном уровне.

Практическая значимость: основные положения и выводы статьи могут быть использованы в научной и практической деятельности при рассмотрении вопросов о сущности и тенденциях развития современной спортивной медицины и разрешении спортивных конфликтов, связанных с обвинениями в употреблении допинга.

Результаты исследования:

В связи с изложенным в статье сделан вывод, что проблема допинга была и остается одной из главных проблем современного, в первую очередь профессионального, спорта. Потому что, несмотря на проводимую борьбу, количество, виды и формы до-

пинга постоянно совершенствуются, их использование спортсменами причиняет вред здоровью спортсменов, искажает реальные спортивные результаты, девальвирует само понятие спорта. Необходимым представляется создание устойчивого правового порядка в физической культуре и спорте. Медицинские нормы целесообразно интегрировать в правовые и унифицировать с указанными стандартами международных спортивных организаций. Необходимо также разработать единый нормативно-правовой акт, включающий правовые и медицинские нормы о спорте – Кодекс спортивной медицины, причем как на национальном, так и на межгосударственном уровне.

Спортивные санкции в отношении российских спортсменов 2016 года в связи с обвинениями в допинге подвигли разговоры о внедрении биологического паспорта профессионального спортсмена. На слуху препарат «мельдоний» и отсутствие должного понимания унифицирования нормативно-регулирующего допинговых препаратов. Указанные проблемы были бы проще решать, имея бы современное право и биолого-правовые нормы четкий механизм регулирования. Сложность этим нюансам придает тот факт, что теоретико-процедурные вопросы еще не сформированы в полном объеме и, зачастую, не успевают за бурным развитием биотехнологий и коммерциализацией спорта.

В современной юридической науке существует ряд отраслей, находящихся в стадии формирования. К ним можно отнести спортивное и медицинское право. Спортивное право – система правовых норм, регулирующих комплекс общественных отношений, возникающих в сфере физической культуры и спорта – трудовых и социального обеспечения, государственно-управленческих, финансовых и ресурсного обеспечения, хозяйственных, уголовно-правовых, в сфере спортивной травматологии и противодействия применению допинга, международных, а также процессуальных (по урегулированию спортивных споров) [1]. Медицинское право – система правовых норм, регулирующих общественные отношения в сфере здравоохранения, медицинского страхования; иными словами, всеми отношениями, возникающими по поводу организации, оплаты и оказания медицинской помощи [2].

Вопросы развития спорта и медицины обсуждаются в Организации Объединенных Наций, в том числе в ее специализированном учреждении – Всемирной организации здравоохранения; в Международном олимпийском комитете. Они имеют отра-

жение в конституциях многих стран, программах политических партий и т. п. Спорт и медицина имеют огромное общественное значение как деятельность, раздвигающая границы человеческих возможностей, охраняющих здоровье. В сфере спорта вращаются громадные материальные и финансовые ресурсы, действуют мощные стимулы как материального, так и духовного характера. В сфере медицины накопилось большое число проблем, как организационно-технического, так и материального характера.

Указанное свидетельствует не только об актуальности в развитии отраслей спортивного и медицинского права, но об определенных общесоциальных и общеправовых моментах в их предмете, что на научном уровне может их сблизить и сформировать единую систему правовых норм.

Действительно, существует ряд институтов, близких как спортивному, так и медицинскому праву: допинг, стандартизация, страхование здоровья, социальность, гендерность, квалификационность, нормативность ГТО и др.

Представляется целесообразным сформулировать определение спортивного медицинского права как системы правовых норм, регулирующих комплексные отношения в сфере физической культуры и спорта, связанные с проведением спортивных соревнований и подготовкой к ним спортсменов, охраной физического здоровья участников этих отношений. В предмет спортивного медицинского права входят отношения по организации и стандартизации спортивных мероприятий, обеспечению их безопасности, а также страхованию, медицинскому досмотру и оказанию медицинской помощи, социальной и правовой защиты спортсменов. Объектом данной системы норм выступает спорт как комплексное явление [3].

Главными субъектами спортивного медицинского права являются спортсмены и спортивные врачи. В связи с этим, необходимо предусмотреть в образовательном стандарте новое направление профессиональной подготовки – спортивный врач.

Объектами спортивного медицинского права являются биостимуляторы и допинг. В общепонятном смысле допинг в спорте (англ. doping, от англ. dope – «давать наркотики») означает фармакологические препараты, методы и процедуры, используемые с целью стимуляции физической и психической работоспособности и достижения благодаря этому высокого спортивного результата [4]. Кроме того, это любые вещества природного или синтетического происхождения, позволяющие в результате их приема

добиться улучшения спортивных результатов. Имеются нерешенные или не до конца решенные вопросы в борьбе с допингом с позиции права[5].

Согласно решению Международного олимпийского комитета к допингам относятся:

1) так называемые допинговые вещества, которые разделены на пять групп:

- анаболические стероиды (тестостерон, ретаболил, метенол и др.);

- бета-блокаторы (пропранолол, атенолол, метпролол и др.);

- диуретические средства (дихлотиозид, гидрохлотиазидфуресеросемид и др.);

- стимуляторы (амфетамин, кофеин, кокаин, эфедрин, метил-эфедрин, фентермин и др.);

- наркотические средства (кодеин, героин, морфин и др.);

2) допинговые методы, например кровяной допинг - аутогемотрансфузия, использование эритропоэтина, препаратов, увеличивающих плазму крови;

3) вещества, прием которых на соревнованиях подлежит ограничению и в случае отсутствия прямых медицинских показаний также может быть расценен как допинг.

С медицинской точки зрения использование допинга несет значительную опасность для здоровья спортсмена. Действие допинговых веществ на организм зависит от пола, возраста, здоровья, особенностей нервной системы и обмена веществ, условий среды и других факторов. Искусственно стимулируя организм, допинговые вещества оказывают возбуждающее действие на центральную нервную систему, снимают охранительное торможение, создают ложное чувство повышения возможностей и отсутствия утомления, нарушают нормальную регуляцию функций, обуславливают нерациональную, неэкономную их деятельность при физических напряжениях, и без того связанных с предельной мобилизацией функций. Они способствуют истощению ресурсов организма от перенапряжения, способствуя его возникновению, что (особенно на фоне некоторых отклонений в состоянии здоровья, недостаточной тренированности или переутомления, возрастных особенностей, неблагоприятных условий среды и др.) может вызвать невротические расстройства, острую сердечную недостаточность, инфаркт миокарда и привести даже к смертельному исходу.

После относительно кратковременного возбуждения функций наступают их угнетение и падение работоспособности. Под влиянием допинга могут наблюдаться нарушения спортивной техники и ориенти-

ровки, снижение логического мышления, немотивированные изменения поведения и выраженная агрессивность.

С медико-правовых позиций требуют пристального изучения такие термины, как: стимуляторы, допинги, психоактивные вещества и средства, новый термин – «токсикоманическое вещество и средство». Изучение всей номенклатуры лекарственных средств, отнесенных с фармакологической позиции к стимуляторам, показывает, что часть средств и веществ, отнесенных к наркотическим средствам, контролируется в рамках Единой конвенции о наркотических средствах (1961 г.), другая - находится в Списках Конвенции о психотропных веществах (1971 г.) и, соответственно, в Перечне наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации, утвержденном Постановлением Правительства РФ от 30.06.1998 № 681[6].

Кроме этого, на основе практики Всемирного антидопингового агентства (ВАДА) можно заключить, что анаболические агенты могут улучшать физические кондиции спортсменов, но их применение грозит серьезными побочными эффектами. Существует два класса анаболических агентов: Анаболические андрогенные стероиды и Бета-2 агонисты.

Анаболические андрогенные стероиды - это искусственные аналоги гормона тестостерона. Тестостерон является мужским половым гормоном, у мужчин его больше, у женщин - меньше. Анаболические андрогенные стероиды обладают как анаболическим, так и андрогенным эффектом, хотя преобладание какого-либо из этих свойств зависит от конкретного продукта, а также от особенностей организма. Анаболические андрогенные стероиды часто называют анаболическими стероидами, то есть эти названия используются как синонимы. Анаболические стероиды применяются перорально (в виде таблеток или капсул), в виде внутримышечных инъекций, а также в виде мазей (кремов, гелей)[7].

В частности, тестостерон стимулирует развитие мужской репродуктивной системы, а также вторичных половых признаков, таких, как волосы на лице и низкий голос (андрогенный эффект), а также усиленный рост мышц и костей (анаболический эффект).

Анаболические стероиды применяются для лечения пациентов, страдающих следующими недугами:

- дефицит собственного натурального тестостерона;

- задержка полового созревания;

- некоторые типы импотенции;
- рак груди;
- истощение организма, вызванное СПИДом или другими болезнями.

В прошлом анаболические стероиды применялись для лечения остеопороза и некоторых заболеваний крови (например, апластической анемии). Интересно, что анаболические стероиды доступны в продаже по рецепту врача. Стероиды сомнительного качества и непонятого происхождения можно найти в различных интернет-магазинах.

В принципе анаболические агенты должны использоваться только в медицинских целях. Их использование для улучшения физических кондиций не только противоречит принципам честной спортивной борьбы, но и подвергает серьезному риску здоровье спортсмена, а также безопасность его соперников и зрителей. В основном спортсмены используют стероиды для достижения следующих целей:

- увеличение мышечной массы и силы;
- сокращение времени на восстановление после нагрузок;
- увеличение продолжительности и интенсивности тренировок.

Бета-2 агонисты - это лекарства, обычно применяемые при лечении астмы. Применение бета-2 агонистов помогает быстро снять приступы удушья при астме и расслабить мышцы вокруг дыхательных путей.

При систематических внутривенных инъекциях бета-2 агонисты могут обеспечивать мощный анаболический эффект, включая рост мышечной массы и расход жировых запасов. При пероральном применении эти препараты также обладают стимулирующим действием. Наименьший анаболический эффект от их применения возникает при приеме бета-2 агонистов в виде ингаляций, поэтому в спорте допускается использование ингаляторов с некоторыми бета-2 агонистами[8].

Бета-2 агонисты являются одновременно и стимуляторами, и анаболическими агентами.

То, какое именно преимущество получит спортсмен от применения бета-2 агонистов, зависит от способа и распределения по времени приема таких препаратов. Для достижения анаболического эффекта эти препараты принимают внутривенно, а в качестве стимуляторов - как перорально, так и в виде инъекций.

Сложность биолого-правовой характеристики указанных препаратов в том, что многие лекарства от астмы содержат бета-2 агонисты, поскольку они эффективны при снятии приступов удушья. Препараты,

их содержащие, выпускаются в форме таблеток, сиропов, растворов для инъекций и ингаляторов. Все бета-2 агонисты запрещены к применению в спорте, исключения составляют ингаляторы, содержащие сальбутамол, сальметерол, тербуталин или формотерол, но даже использование и таких ингаляторов ограничено и допустимо только для предотвращения и снятия приступов астмы, в том числе вызванной физическими нагрузками. Врач спортсмена, страдающего от астмы, обязан до соревнований предоставить в соответствующую ответственную инстанцию письменное уведомление о наличии этого заболевания.

Во время Олимпийских игр все такие спортсмены обязаны предоставить выписку из истории болезни, после чего проводятся необходимые анализы для подтверждения предоставленных данных.

Какие еще существуют биостимуляторы? Во-первых, алкоголь. Алкоголь замедляет и подавляет действие центральной нервной системы (мозг и спинной мозг). Он может понижать давление, ослаблять самоконтроль и вызывать чувство эйфории. Спортсмены иногда принимают алкоголь по психологическим причинам, например для поднятия самоуверенности или для уменьшения боли. Также нередко алкоголь принимают для уменьшения стресса, снятия напряжения, для уменьшения тремора рук, в частности в таких видах спорта, как стрельба и стрельба из лука.

Алкоголь может существенно ухудшать спортивные кондиции ввиду неадекватности в суждениях, ухудшения координации и реакции. Он также может придавать излишнюю самоуверенность, которая может поставить под угрозу безопасность как самого спортсмена, так и безопасность его соперников и зрителей.

Тема злоупотребления алкоголем в спорте довольно сложная из-за повсеместного его применения в обществе. Употребление алкогольных напитков является традицией, прочно вошедшей в социальную жизнь. Чаще всего спортсмены злоупотребляют алкоголем во внесоревновательный период и между периодами активных тренировок - в это время существенно повышается риск получения травмы и других неприятных последствий.

В списке запрещенных субстанций и методов МОК-ВАДА содержится требование к каждой ответственной инстанции определиться с тем, вносить или нет этанол в список запрещенных для данного вида спорта субстанций. Там, где это оговорено, проводятся тестирования на алкоголь, и положительная проба может привести к санкциям.

Этанол запрещен в таких видах спорта, как стрельба, фехтование, современное пятиборье, авто- и мотоспорт.

Во-вторых, каннабиноиды (марихуана). Каннабиноиды вызывают состояние расслабленности, но также могут провоцировать изменения настроения, восприятия и мотивации. Каннабиноиды - это психоактивные вещества, содержащиеся в конопле. Наиболее активным каннабиноидом является дельта-9-тетрагидроканнабинол, который в наибольшей концентрации содержится в макушках и листьях растения.

Марихуана и гашиш готовятся из растения конопли. Марихуана обычно состоит из высушенных цветов и листьев растения. Гашиш - это кусочки высушенной смолы растения, он обладает более сильным действием на единицу массы по сравнению с марихуаной. Гашишное масло - это густая маслянистая жидкость, экстрагированная из гашиша, оно является самой сильнодействующей формой каннабиса.

Действие марихуаны сильно варьирует в зависимости от дозировки и индивидуальных особенностей организма. Обычно ее действие продолжается около двух часов. Из-за того что марихуана является «жиролюбивым» препаратом, ее следы могут быть обнаружены в организме спустя несколько месяцев после применения. Каннабиноиды вызывают состояние расслабленности, но также могут провоцировать изменения настроения, восприятия и мотивации.

В принципе марихуана не считается препаратом, улучшающим физические кондиции спортсмена, скорее, наоборот. В большинстве стран марихуана является запрещенным наркотиком. В спорте ее применение запрещено по следующим причинам:

- ее применение вредит имиджу спорта;
- элитные спортсмены часто являются образцами для подражания среди подростков, поэтому применение ими марихуаны служит негативным примером для молодого поколения;
- соображения безопасности: воздействие каннабиноидов может отрицательно сказаться на способности выполнять сложные упражнения, что может подвергать риску здоровье и безопасность как самого спортсмена, так и его соперников, а также зрителей.

Причины применения марихуаны вряд ли следует искать в намерении улучшить свои спортивные кондиции, они имеют, скорее, социальный характер. Однако спортсменам следует помнить, что санкции, которым они могут быть подвергнуты за применение запрещенных субстанций, выносятся вне зависимости от того, что послу-

жило побуждающим мотивом к их использованию.

В настоящее время в списке запрещенных субстанций и методов ВАДА применение марихуаны запрещено во всех видах спорта.

В-третьих, Бета-блокаторы. Бета-блокаторы - это вещества, понижающие частоту сердцебиения и уменьшающие силу, которая связана с этой частотой. Действие этих препаратов особенно выражено во время болезней, стрессов и тренировок. Бета-блокаторы - это вещества, блокирующие действие адреналина и норадреналина на адренорецепторы по всему организму. Они применяются для понижения частоты сердцебиения, кровяного давления и помогают предотвратить расширение сосудов сердца, соответственно снижая нагрузку на сердечную мышцу. В медицине бета-блокаторы применяются при лечении различных расстройств сердечно-сосудистой системы, таких, как повышенное давление, стенокардия и порок сердца. Кроме того, они могут быть использованы при лечении мигреней, для уменьшения чувства тревоги и для сдерживания тремора.

Спортсмены могут использовать бета-блокаторы для уменьшения частоты сердцебиения и дрожания рук в тех видах спорта, где решающими факторами являются точность и твердость рук (например, стрельба, в том числе из лука).

В настоящее время в запрещенном списке ВАДА применение бета-блокаторов запрещено в таких видах спорта, как аэронавтика, стрельба из лука, прыжки в воду, синхронное плавание, лыжный спорт, керлинг, бобслей, шахматы, стрельба, современное пятиборье, гимнастика, борьба, авто- и мотоспорт, и др. Спортсменам следует уточнить в своей национальной или международной федерации, разрешено ли им применять препараты, содержащие бета-блокаторы.

В-четвертых, глюкокортикостероиды. Глюкокортикостероиды - это вещества, способные снимать воспаления. Если их принимать систематически, они могут вызывать чувство эйфории. В традиционной медицине глюкокортикостероиды используются как противовоспалительные средства и для снятия боли. Обычно они применяются для лечения астмы, сенной лихорадки, воспаления тканей и ревматоидного артрита. При внутривенном применении глюкокортикостероиды влияют на многие функции организма, они могут влиять на настроение и вызывать чувство эйфории. Глюкокортикостероиды могут содержаться как в лекарствах, продаваемых по рецепту, так и в

общедоступных медикаментах. Кроме того, они могут входить в состав различных кремов, мазей, ингаляторов, спреев, капель, таблеток и инъекций. Лекарства, содержащие глюкокортикостероиды, применяют для лечения астмы, сенной лихорадки. Кремы и мази с этими субстанциями используются для лечения различных кожных инфекций. В виде инъекций их применяют для лечения различных внутренних воспалений.

Использование глюкокортикостероидов запрещено орально, ректально, внутривенно или внутримышечно.

В-пятых, диуретики. Диуретики помогают удалять из организма жидкости и минералы путем повышения мочеобразования. Диуретики стимулируют почки к увеличению объема образования мочи, что приводит к выводу из организма избыточной влаги и электролитов. Это помогает предотвращать и уменьшать отек тканей, вызванный застоем жидкости. Диуретики применяются при лечении гипертонии, сердечной недостаточности и различных заболеваниях почек.

Диуретики могут использоваться спортсменами для достижения следующих целей:

- для быстрой кратковременной сгонки веса в тех видах спорта, где предусмотрены весовые категории;

- для разжижения мочи, чтобы избежать обнаружения в ней запрещенных субстанций.

Быстрая кратковременная сгонка веса в спорте не может быть оправданна с медицинской точки зрения. Помимо того что использование диуретиков несет угрозу для здоровья, применение их для сгонки веса с целью перехода в более легкую весовую категорию или же для маскировки противоречит спортивной этике и правилам честной спортивной борьбы. Следует всегда помнить, что обезвоживание организма всегда отрицательно сказывается на спортивной форме.

Диуретики могут содержаться в препаратах для лечения повышенного давления, сердечных расстройств, нарушений работы печени и почек[9].

Всего на данный момент существует три допинговых метода, запрещенных в спорте:

- кровяной допинг;
- использование искусственных переносчиков кислорода или расширителей плазмы;
- фармакологические, химические и физические манипуляции.

Кровяной допинг - это применение крови или продуктов на ее основе с целью увеличения количества эритроцитов в организме. При этом растет объем кислорода, поступающего в мышцы, и соответственно

повышается выносливость. Для этих целей используется кровь, ранее взятая у этого спортсмена или у другого человека. В медицине красные кровяные клетки применяются при лечении тяжелых форм анемии или при значительных кровопотерях после хирургических операций или в результате травм.

Искусственно повышенный объем переносимого по организму кислорода улучшает физические кондиции спортсменов и поэтому дает несправедливое преимущество. Кровяной допинг в основном применяется в тех видах спорта, где на первый план выходит выносливость, - в беге на средние и длинные дистанции, велоспорте и лыжных гонках.

Искусственные переносчики кислорода - это химические соединения, используемые для увеличения объема кислорода в крови. Примерами таких переносчиков могут быть перфторкарбоны (PFCs), переносчики кислорода на основе гемоглобина (HBOCs) и упакованные в липосомы гемоглобины (LEHs). Искусственные переносчики кислорода могут быть использованы, когда настоящая кровь недоступна, имеется риск заражения какой-либо инфекцией или же нет времени на то, чтобы проверить совместимость крови донора и реципиента. В настоящее время такие продукты используются мало, они постоянно совершенствуются, требуется проводить больше научных исследований и клинических испытаний на эту тему.

Имеются данные о том, что некоторые спортсмены использовали эти продукты для повышения объема транспортировки кислорода с целью повышения выносливости, однако этот эффект не подтвержден.

Расширители плазмы - это субстанции, используемые для разбавления крови и увеличения ее количества. Примерами подобных субстанций являются Haemaccel (полигелин), Gelofusine (желатин), Albumex (альбумин) и Hesperan (гидроксилэтиловый крахмал). Расширители плазмы используются в медицине для замены жидкости в случаях шокового состояния, которое может быть вызвано потерей крови после хирургических операций или в результате травмы.

Некоторые спортсмены используют такие препараты для маскировки эритропозтина.

Фармакологические, химические и физические манипуляции - это использование субстанций или методов с целью изменить состав мочи или заменить ее пробу.

К числу запрещенных практик относятся:

- катетеризация;
- замена мочи или фальсификация пробы;

- использование субстанций, модифицирующих или подавляющих мочеотделение (например, пробенацид);

- применение эпитестостерона [10].

Наркотические анальгетики снимают боль. Примерами таких наркотиков могут быть героин, морфий, кодеин и меперидин. Наркотические анальгетики действуют на мозг и спинной мозг так, что ощущение боли ослабевает. Наркотические анальгетики имеют широкий спектр применений в медицине. Они используются для снятия боли, лечения диареи, кашля, как дополнительное средство к общим обезболивающим.

Повреждение тканей всегда ассоциировано с болью. Наркотические анальгетики могут использоваться для уменьшения или снятия боли, вызванной травмой или болезнью, для возможности тренироваться дольше и интенсивнее. Это может быть очень опасно, поскольку эти вещества лишь прячут боль. Ложное чувство уверенности и безопасности может заставить спортсмена проигнорировать потенциально серьезное повреждение. Наркотические анальгетики притупляют чувство тревоги, что искусственно повышает кондиции спортсмена.

Запрещенные наркотические анальгетики могут содержаться как в лекарствах, продаваемых по рецепту, так и в общедоступных медикаментах. Сильные обезболивающие, такие, как морфин, диаморфин и меперидин, применяющиеся для облегчения сильной боли, обычно отпускаются только по рецептам. Наркотические анальгетики, используемые для снятия умеренной боли, а также для лечения кашля/простуды и желудочных расстройств, могут содержать такие анальгетики, как кодеин. Они нередко встречаются в комбинации с аспирином (разрешен), ацетаминофеном (разрешен), кофеином (разрешен). Многие из таких медикаментов общедоступны.

Спортсменам следует знать, что применение следующих наркотических анальгетиков разрешено:

- кодеин;
- декстрометорфан;
- декстропропоксифен;
- дигидрокодеин;
- дифеноксилат;
- этилморфин;
- фолкодин;
- пропаксифен;
- трамадол.

Обезболивающие средства - это препараты, вызывающие временную потерю чувствительности. В медицине эти средства применяются для сдерживания боли.

Спортсмены используют их для снятия боли с целью продления возможности тренироваться и соревноваться.

Обезболивающие средства могут применяться местно в виде мазей, кремов, капель (глазных и ушных), а также, например, при ангине в виде таблеток. В подобных случаях применение обезболивающих средств в спорте допустимо. Кроме того, эти средства могут применяться в виде инъекций. Применение обезболивающих инъекций допустимо только тогда, когда это оправданно с медицинской точки зрения и в следующих случаях:

- могут быть использованы бупивакаин, лидокаин, мепивакаин, новокаин и родственные субстанции (кроме кокаина);

- допускается использование сосудосуживающих средств, например адреналина, вместе с обезболивающими;

- использовать можно только местные и внутрисуставные инъекции.

Некоторые ответственные инстанции могут потребовать уведомление об использовании обезболивающих средств, поэтому перед их применением следует выяснить в своей национальной или международной федерации, необходимо ли такое уведомление, и если да - предпринять соответствующие действия.

Пептидные гормоны - это вещества, вырабатываемые железами внутренней секреции для контроля различных функций организма. Миметики - это вещества, имитирующие действия других субстанций. Аналоги - это искусственно синтезированные соединения, обладающие такими же свойствами, как и естественные гормоны человека. Гормоны несут информацию от одного органа к другому, регулируя разнообразные функции организма, такие, как рост, сексуальное влечение, поведение и чувствительность к боли.

Спортсмены используют эти субстанции по разным причинам, в зависимости от того, чего они хотят добиться. Гормоны могут применяться для:

- стимуляции выработки собственных гормонов;

- увеличения мышечной массы и силы;

- стимуляции выработки эритроцитов, что увеличивает объем переносимого кровью кислорода.

Сложно оценить, сколько вреда может принести использование в качестве допинга пептидных гормонов, миметиков и аналогов, поскольку это зависит от многих факторов, таких, как индивидуальные особенности организма, тип субстанции, ее количество. Субстанции, имитирующие действия естественных гормонов, могут влиять на гормональный баланс в организме.

Правильнее будет рассмотреть по отдельности различные запрещенные пептид-

ные гормоны, миметики и аналоги, такие, как:

- хорионический гонадотропин ((hCG) - запрещен к применению только для мужчин);
- питуитарный и синтетический гонадотропины ((LH) - запрещены к применению только для мужчин);
- кортикотропин (АСТН, тетракозактид);
- гормон роста (hGH);
- инсулиноподобный фактор роста (IGF-1);
- эритропоэтин (ЕРО);
- инсулин[11].

Человеческий хорионический гонадотропин (hCG) - это гормон, вырабатываемый плацентой во время беременности, он способен увеличивать секрецию натуральных мужских и женских стероидов. В медицине он используется для лечения бесплодия, неопустившихся яичек и задержки полового созревания.

Применение hCG мужчинами стимулирует тестисы на быструю выработку тестостерона, поэтому его использование приравнивается к использованию тестостерона. Его применение запрещено только для мужчин. В основном его используют потребители анаболических стероидов в попытке преодолеть пагубные для их яичек последствия их применения или же в качестве маскирующего агента.

Питуитарный и синтетический гонадотропины. Это гормоны, вырабатываемые гипофизом, включая лютеинизирующий гормон (LH). LH стимулирует функционирование тестисов, а также выработку половых гормонов у мужчин и женщин. В медицине LH применяется при лечении женского и мужского бесплодия. У женщин он стимулирует овуляцию, а у мужчин - выработку тестостерона, что приравнивается к его применению. Использование LH запрещено только для мужчин. Синтетические гонадотропины, такие, как тамоксифен, циклофенил и кломифен, регулируют выработку гонадотропина.

Кортикотропин (адренокортикотропин АСТН) - это естественный гормон, вырабатываемый гипофизом для стимуляции секреции кортикостероидов. В медицине он используется как диагностическое средство для анализа функции коры надпочечников и для лечения некоторых неврологических расстройств, таких, как детский паралич и рассеянный склероз. Спортсменами он используется с целью повышения уровня натуральных кортикостероидов, что обеспечивает противовоспалительный эффект, а также вызывает чувство эйфории. Применение кортикотропина приравнивается к применению глюкокортикостероидов и поэтому запрещено.

Человеческий гормон роста (hGH) вырабатывается гипофизом. Он активно стимулирует рост мышц, костей и других тканей, а также способствует сжиганию жира. Он необходим для нормального роста и развития детей, а также поддержания метаболизма у взрослых. В медицине он применяется для лечения детей с пониженной функцией гипофиза. Обычно его применяют только при лечении тех детей, у кого центры роста костей еще не закрыты. С 1989 г. его также начали использовать для лечения взрослых с дефицитом гормона роста.

Существует масса причин, по которым спортсмены могут начать принимать гормон роста, например чтобы увеличить мышечную массу и уменьшить жировые запасы. Другим стимулом к его приему может послужить желание, чтобы ребенок вырос более высоким.

В научных исследованиях упоминаются и другие положительные эффекты от приема гормона роста (это имеет отношение только к взрослым с дефицитом этого гормона), такие, как увеличение минутного сердечного выброса во время тренировок, увеличение потоотделения, улучшение терморегуляции организма, интенсификация расщепления жиров, что дает дополнительную энергию для повышения выносливости, а также, возможно, для укрепления связок и сокращения времени заживления травм. Спортсменов не могли не заинтересовать подобные свойства гормона, однако еще раз следует подчеркнуть, что в исследованиях принимали участие только пациенты с дефицитом гормона роста.

Инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) - это гормон, вырабатываемый преимущественно печенью и регулируемый гормоном роста и инсулином. IGF-I стимулирует синтез протеина и тормозит разрушение мышечных клеток, что способствует увеличению мышечной массы и уменьшению жировых отложений. IGF-I применялся в медицине для лечения карликовости у детей, а также для лечения детей, у которых были антитела, уменьшавшие эффективность действия гормона роста.

Спортсмены используют IGF-I из-за его анаболических свойств.

Эритропоэтин (ЕРО) - это гормон, вырабатываемый почками и стимулирующий образование эритроцитов. В медицинской практике синтетическая форма ЕРО используется для лечения анемии, ассоциированной с хронической почечной недостаточностью. ЕРО может использоваться спортсменами для увеличения объема транспортировки в организм кислорода, который возрастает с ростом количества

эритроцитов. Этот дополнительный кислород поступает в мышцы, что повышает выносливость. Чаще всего на этом допинге попадают бегуны на длинные дистанции, лыжники и велосипедисты.

Инсулин - это гормон, вырабатываемый поджелудочной железой и участвующий в регуляции уровня сахара в крови. Он участвует в метаболизме углеводов, жиров и белков. В медицине он используется при лечении сахарного диабета.

Спортсмены его принимали вместе с анаболическими стероидами, кленбутеролом и/или гормоном роста в попытке увеличения мышечной массы. Вопрос о том, способствует ли достижению такого результата инсулин, небесспорен, в отличие от того факта, что при таком его использовании весьма велик риск проявления серьезных побочных эффектов. Не исключен в том числе и летальный исход от применения инсулина.

В числе побочных эффектов возможен низкий уровень сахара (гипогликемия) с такими сопутствующими явлениями, как дрожь, тошнота, слабость, короткое дыхание, сонливость, кома, повреждения мозга и смерть.

Инсулин разрешен к применению только тем спортсменам, кто является инсулинозависимым диабетиком. При этом необходимо предоставить выписку из истории болезни, подготовленную эндокринологом или врачом команды. Спортсмен должен узнать в своей национальной или международной федерации требования к предоставлению уведомления.

Современные методы анализа пока не позволяют «ловить» спортсменов на применении инсулина.

Стимуляторы - это вещества, различные по своей химической структуре; их объединяет способность искусственно активировать центральную нервную систему и/или регулировать выработку организмом адреналина.

Хотя стимуляторы действуют на центральную нервную систему, они способны стимулировать организм как ментально, так и физически. К стимуляторам относятся, например, такие вещества, как кофеин, амфетамины, кокаин, эфедрин и псевдоэфедрин. Стимуляторы способны:

- повышать общий тонус организма;
- снимать усталость;
- поднимать соревновательный дух и агрессивность.

Стимуляторы находят множество различных применений в традиционной медицине. Амфетамины используются для лечения нарколепсии, ожирения и как до-

полнительное средство при лечении хронических болей. Кофеин обладает антиоксидантным действием, т.е. понижает окислительную способность кислорода, что уменьшает количество и качество поврежденной мышечной ткани. Кофеин также способен повышать объем поглощаемого при дыхании кислорода в условиях его дефицита. Кроме того, кофеин подавляет бронхостеноз, который может быть вызван холодом, токсическими соединениями и повышенными нагрузками, особенно у астматиков. Кофеин применяется и для повышения термогенеза и уровня метаболизма, а также для похудения. Эфедрин, псевдоэфедрин и фенилпропаноламин обычно используются как противоотечные средства в составе многих лекарств, применяемых при простуде, гриппе и других заболеваниях.

Применение стимуляторов запрещено и/или ограничено ввиду того, что искусственная стимуляция может расширять возможности организма, ставя тем самым спортсменов изначально в неравные условия. Спортсмены могут использовать стимуляторы для того, чтобы:

- повышать способность тренироваться на максимальном уровне;
- снижать усталость;
- подавлять аппетит.

Однако известно, что стимуляторы способны лишь незначительно улучшать спортивную форму хорошо тренированных спортсменов.

Стимуляторы могут содержаться как в фармацевтических препаратах, так и в растительных и пищевых добавках. Часто они присутствуют в лекарствах от кашля и простуды, от аллергии, а также в некоторых обезболивающих средствах.

Спортсмены должны быть предельно внимательны при выборе лекарств. Они не должны забывать напоминать врачам, что им нельзя принимать препараты, содержащие запрещенные субстанции, иначе они не пройдут допинг-контроль.

Кофеин является стимулятором, применение которого в настоящее время разрешено.

Стимуляторы часто содержатся в «спортивных пищевых добавках» и средствах для похудения. Имеются данные, что использование пищевых добавок, содержащих эфедрин, может представлять угрозу для здоровья некоторых людей. Биодобавки с эфедрой (иногда называемой ма хуанг) повсеместно рекламируются и используются как средство для похудения и/или источник дополнительной энергии. В медицинской литературе описано немало случаев различных расстройств, вызванных применением

добавок, содержащих эфедру. В частности, пострадать может центральная нервная (приступы и припадки), церебрально-васкулярная и сердечно-сосудистая системы.

Эфедра - запрещенный стимулятор, поэтому спортсмены, проходящие процедуру допинг-контроля, должны следить за тем, чтобы в принимаемых ими добавках не содержалось таких компонентов, как ма хуанг, китайская эфедра, экстракт ма хуанг, эфедра, экстракт эфедры, *ephedra sinica*, *ephedra herb powder*, эпитонин или эфедрин. Любой из этих ингредиентов указывает на то, что в продукте содержится эфедрин.

Тетрагидрогестринон (ТНГ) - это 19 нор-стероид, по структуре являющийся гестриноном. Гестринон применяется при лечении эндометриоза. До настоящего времени не было проведено ни одного исследования с целью выяснения того, можно ли применять для лечения этого заболевания ТНГ.

Одно из независимых агентств, скооперированных с ВАДА - ЮСАДА (национальное антидопинговое агентство США), работало совместно с аккредитованной МОК/ВАДА лабораторией в Калифорнийском университете (UCLA) над обнаружением этого нового компонента.

В настоящее время ВАДА пересматривает стандарты для лабораторий, в той части, где речь идет о сроках хранения проб. Стоит задача добиться большей гармонизации в этом вопросе.

Теперь, о правовых основах допинга. Как известно, с каждым годом в спортивную сферу вкладывается все больше и больше материальных средств. Увеличивается количество всевозможных организаций, имеющих непосредственный коммерческий интерес в той или иной спортивной среде. Многие государства понимают выгоду спорта во всех отношениях и способствуют его развитию, борясь за проведение у себя олимпиад и различных международных турниров. Все это и многочисленные другие причины, разумеется, приводят к большому количеству спортивных споров. Наиболее серьезными конфликтами, приводящими к дисквалификации, а иногда и к уголовному наказанию, являются допинговые споры.

Всемирный антидопинговый кодекс [12] (далее также – Кодекс) был принят в 2003 году и начал действовать в 2004 году. Обновленный Кодекс был утвержден Советом учредителей Всемирного антидопингового агентства 17 ноября 2007 года и вступил в силу с 1 января 2009 года. Официальный текст Всемирного антидопингового кодекса существует в английской и французской версии и опубликован на сайте Всемирного антидопингового агентства.

Кодекс является основополагающим и универсальным документом, на котором основывается Всемирная антидопинговая программа в спорте. Цель Кодекса заключается в повышении эффективности борьбы с допингом в мире путем объединения основных элементов этой борьбы. Для достижения эффективного взаимодействия в тех вопросах, по которым требуется единообразие, Кодекс содержит конкретные положения. В то же время он достаточно универсален в тех случаях, когда требуется гибкий подход к вопросам применения на практике принципов борьбы с допингом.

Цели Всемирной антидопинговой программы состоят в следующем:

- защищать фундаментальное право спортсменов участвовать в соревнованиях, свободных от допинга, и таким образом пропагандировать здоровье, справедливость и равенство для всех спортсменов мира;

- обеспечивать создание согласованных, скоординированных и эффективных антидопинговых программ как на международном, так и на национальном уровнях, чтобы раскрывать, сдерживать и предотвращать случаи применения допинга.

В то же время Генеральная конференция ЮНЕСКО на своей 33-й сессии, состоявшейся 3-21 октября 2005 года в Париже, учитывая резолюцию 58/5, принятую Генеральной Ассамблеей Организации Объединенных Наций 3 ноября 2003 г. и касающуюся спорта как средства содействия воспитанию, здоровью, развитию и миру, сознавая, что спорт должен играть важную роль в охране здоровья, в нравственном, культурном и физическом воспитании, а также в содействии укреплению международного взаимопонимания и мира, отмечая необходимость поощрения и координации международного сотрудничества, направленного на искоренение допинга в спорте, выражая обеспокоенность в связи с использованием спортсменами допинга в спорте и последствиями этого для их здоровья, принципа справедливой игры, искоренения мошенничества и будущего спорта, сознавая, что допинг ставит под угрозу этические принципы и воспитательные ценности, закрепленные в Международной хартии физического воспитания и спорта ЮНЕСКО и Олимпийской хартии, напоминая о том, что Конвенция против применения допинга и Дополнительный протокол к ней, принятые в рамках Совета Европы, представляют собой инструменты публичного международного права, на которых основываются политика стран и межправительственное сотрудничество в области борьбы с допингом, ссылаясь на рекомендации по вопросу

о допинге, принятые на второй, третьей и четвертой международных конференциях министров и руководящих работников, ответственных за физическое воспитание и спорт, которые были организованы ЮНЕСКО в Москве (1988 г.), Пунта-дель-Эсте (1999 г.) и Афинах (2004 г.), а также на резолюцию 32 С /9, принятую Генеральной конференцией ЮНЕСКО на ее 32-й сессии (2003 г.), принимая во внимание Всемирный антидопинговый кодекс, принятый Всемирным антидопинговым агентством 5 марта 2003 г. в Копенгагене на Всемирной конференции по допингу в спорте, а также Копенгагенскую декларацию о борьбе с допингом в спорте, учитывая необходимость проведения и расширения на постоянной основе исследований для совершенствования методов обнаружения допинга и более глубокого изучения факторов, влияющих на его использование, в целях обеспечения максимальной эффективности стратегий предотвращения применения допинга, учитывая также важность просвещения на постоянной основе спортсменов, вспомогательного персонала спортсменов и общества в целом по вопросам предотвращения применения допинга, принимая во внимание необходимость наращивания потенциала государств-участников для осуществления программ борьбы с допингом, учитывая, что государственные органы и организации, ответственные за спорт, выполняют взаимодополняющие функции по предотвращению применения допинга в спорте и борьбе с ним, в частности для обеспечения надлежащего проведения спортивных мероприятий на основе принципа справедливой игры и охраны здоровья их участников, 19 октября 2005 года приняла Международную конвенцию о допинге в спорте [13].

Цель данной Конвенции в рамках стратегии и программы деятельности ЮНЕСКО в области физического воспитания и спорта заключается в содействии предотвращению применения допинга в спорте и борьбе с ним в интересах его искоренения.

Для достижения цели Конвенции государства-участники [14] обязуются:

(а) принимать на национальном и международном уровнях надлежащие меры, соответствующие принципам Кодекса;

(b) поощрять все формы международного сотрудничества, направленного на обеспечение защиты спортсменов, соблюдение этических принципов в спорте и совместное использование результатов исследований;

(с) содействовать международному сотрудничеству между государствами-участниками и ведущими организациями в области борьбы с допингом в спорте, в част-

ности сотрудничеству со Всемирным антидопинговым агентством.

Государства-участники осуществляют координацию антидопинговых действий внутри страны, а именно могут использовать антидопинговые организации, а также спортивные учреждения и организации.

Государства-участники принимают, когда это целесообразно, меры по ограничению доступности запрещенных субстанций и методов в целях ограничения их использования спортсменами в спорте, за исключением случаев, когда такое использование основано на разрешении на терапевтическое использование. В их число входят меры по борьбе с распространением запрещенных субстанций и методов среди спортсменов и, соответственно, меры по контролю за их производством, перемещением, ввозом, распределением и продажей.

Государства-участники принимают меры по предотвращению и ограничению использования спортсменами запрещенных субстанций и методов в спорте и обладания ими, за исключением случаев, когда они используются на основании разрешения на их терапевтическое использование, или, когда это целесообразно, поощряют принятие таких мер соответствующими юридическими лицами, находящимися под их юрисдикцией.

Государства-участники сами принимают или содействуют принятию спортивными организациями и антидопинговыми организациями мер, в том числе санкций или штрафов в отношении вспомогательного персонала спортсмена, нарушающего антидопинговое правило или совершающего другое нарушение, которое связано с допингом в спорте.

Государства-участники, когда это целесообразно, содействуют внедрению производителями и распространителями пищевых добавок передовой практики в области сбыта и распределения пищевых добавок, включая предоставление информации об их химическом составе и гарантии качества.

Государства-участники также содействуют сотрудничеству между антидопинговыми организациями, государственными органами и спортивными организациями, находящимися под их юрисдикцией, и аналогичными организациями и органами, находящимися под юрисдикцией других государств-участников.

Признавая, что борьба с допингом в спорте может быть эффективной только в том случае, если будут обеспечены тестирование спортсменов без предварительного уведомления и своевременная транспортировка проб для анализа в лаборатории, государства-участники, когда это целесообразно

и в соответствии с внутригосударственным законодательством и процедурами:

(а) при условии соблюдения соответствующих нормативных положений принимающих стран оказывают содействие Всемирному антидопинговому агентству и антидопинговым организациям, действующим в соответствии с Кодексом, в проведении соревновательного и внесоревновательного допинг-контроля своих спортсменов как на своей территории, так и за ее пределами;

(b) оказывают содействие в обеспечении своевременного передвижения через границы надлежащим образом уполномоченных групп допинг-контроля при проведении мероприятий по допинг-контролю;

(c) сотрудничают в целях содействия своевременной транспортировке или перемещению через границы проб таким образом, чтобы обеспечить их безопасность и сохранность;

(d) оказывают помощь в обеспечении международной координации мероприятий по допинг-контролю, проводимых различными антидопинговыми организациями, и сотрудничают в этих целях со Всемирным антидопинговым агентством;

е) развивают сотрудничество между лабораториями допинг-контроля, находящимися под их юрисдикцией, и соответствующими лабораториями, находящимися под юрисдикцией других государств-участников. В частности, государства-участники, располагающие аккредитованными лабораториями допинг-контроля, должны содействовать оказанию помощи через лаборатории, находящиеся под их юрисдикцией, другим государствам-участникам, с тем чтобы дать им возможность приобрести необходимые опыт и навыки и освоить необходимую методологию для создания своих собственных лабораторий, если они того пожелают;

(f) содействуют заключению и реализации договоренностей о взаимном тестировании между назначенными в соответствии с Кодексом антидопинговыми организациями;

(g) признают на взаимной основе процедуры допинг-контроля и послетестовые процедуры, включая связанные с этим спортивные санкции, которые применяются любой антидопинговой организацией в соответствии с Кодексом.

Государства-участники обязуются в рамках имеющихся у них средств способствовать и содействовать проведению антидопинговых исследований в сотрудничестве со спортивными и другими соответствующими организациями по следующим вопросам:

(а) предотвращение использования и методы обнаружения допинга, поведенческие и социальные аспекты, а также последствия использования допинга для здоровья;

(b) пути и средства разработки научно обоснованных программ физиологической и психологической подготовки, не наносящих ущерба здоровью спортсмена;

(c) применение всех новых субстанций и методов, являющихся результатом научного прогресса.

При условии соблюдения соответствующего национального законодательства и международного права государства-участники, когда это целесообразно, обмениваются результатами проведенных антидопинговых исследований с другими государствами-участниками и Всемирным антидопинговым агентством.

Долгое время использование допинга рассматривалось как нарушение, подлежащее безусловной ответственности. Поэтому суд, разрешая споры, связанные с применением спортсменами допинга, как правило, руководствовался принципом презумпции виновности спортсмена. Соответственно данному принципу распределялось и бремя доказывания: спортсмен признавался виновным в применении допинга до тех пор, пока им не было доказано обратное. При этом для установления факта нарушения антидопинговых правил ответчику не было необходимости доказывать, что вследствие применения допинга истцом были достигнуты преимущества в соревновании. Так, в прежней редакции Антидопингового кодекса устанавливалось (ст. 4.4, гл. 2): «Достижение положительного эффекта от применения допинга или его отсутствие не имеет значения. Для того чтобы нарушение антидопинговых правил считалось состоявшимся, достаточно употребления запрещенного вещества». Такая позиция многократно высказывалась и Международным спортивным арбитражным судом в г. Лозанна... При этом не имело никакого значения, как попал допинг в организм спортсмена - без его ведома, насильно или по настоянию тренера. Спортсмен подлежал освобождению от ответственности только в том случае, если имело место одно из двух обстоятельств:

1) проба была подменена;

2) препарат был подсыпан с умыслом.

Кроме того, суд мог прекратить производство по делу за невозможностью доказать вину спортсмена в применении допинга [15].

В настоящее время правила поменялись радикально. Бремя доказывания возложено на антидопинговую организацию, изменен порядок принятия решения по допингу и его апелляции.

Есть как минимум еще одно обстоятельство, на которое следует обратить внимание в контексте борьбы с допингом. Это максимальная гласность и открытость, максимальное вовлечение в эти процессы общества, всех заинтересованных, в том числе и через публикации [16]. И это, кстати, не право, а обязанность каждого из государств-участников (Россия не участвует – прим. автора) Европейской конвенции против применения допинга» (ETS N 135) 1989 года [17].

Итак, проблема допинга была и остается одной из главных проблем современного, в первую очередь профессионального, спорта. Потому что, несмотря на проводимую борьбу, количество, виды и формы допинга постоянно совершенствуются, их использование спортсменами причиняет вред здоровью спортсменов, искажает реальные спортивные результаты, девальвирует само понятие спорта.

Необходимым представляется создание устойчивого правопорядка в физической культуре и спорте. Медицинские нормы целесообразно интегрировать в правовые и унифицировать с указанными стандартами международных спортивных организаций. Необходимо также разработать единый нормативно-правовой акт, включающий правовые и медицинские нормы о спорте – Кодекс спортивной медицины, причем как на национальном, так и на межгосударственном уровне.

Список литературы

1. См.: Алексеев С.В. Спортивное право России. Правовые основы физической культуры и спорта: Учебник для вузов / Под ред. П. В. Крашенинникова. М.: ЮНИТИ-ДАНА, закон и право, 2005, с. 164.
2. См. подробнее: [ru.wikipedia.org/Медицинское право](http://ru.wikipedia.org/Медицинское_право).
3. См. подробнее: Иглин А.В. Правовая характеристика биостимуляторов и допинга нормами спортивного медицинского права // Рациональное питание, пищевые добавки, биостимуляторы. № 2, 2016 год. С. 45-50.
4. Терминология спорта: Толковый словарь спортивных терминов / Сост. Ф.П. Суслов, Д.А. Тышлер. М., 2001. С. 108.
5. См. подробнее: Каменков В.С. Право о допинге в спорте // Спорт: экономика, право, управление. 2014. N 1. С. 20 - 24.
6. См. подробнее: Опрышко А.Н. Исключение использования наркотических средств и допинга в международном спортивном движении // Международное право и международные организации. 2014. N 1. С. 64 - 79.
7. Внимание: допинг! Что нужно знать спортсменам и тренерам о запрещенных субстанциях // «Спорт: экономика, право, управление», 2007, № 3.
8. Внимание: допинг! Что нужно знать спортсменам и тренерам о запрещенных субстанциях // «Спорт: экономика, право, управление», 2007, № 3.
9. Внимание: допинг! Что нужно знать спортсменам и тренерам о запрещенных субстанциях // «Спорт: экономика, право, управление», 2007, № 3.
10. Внимание: допинг! Что нужно знать спортсменам и тренерам о запрещенных субстанциях // «Спорт: экономика, право, управление», 2007, № 3.
11. Внимание: допинг! Что нужно знать спортсменам и тренерам о запрещенных субстанциях // «Спорт: экономика, право, управление», 2007, № 3.
12. Всемирный антидопинговый кодекс, принят Всемирным антидопинговым агентством. Пер. с англ. Гусевой И.И., Деревоедова А.А., Родченкова Г.М. / Под ред. А.А. Деревоедова. М., 2008.
13. Бюллетень международных договоров. 2007. N 9. С. 20 - 46.
14. Документ вступил в силу, в том числе для России, 1 февраля 2007 года, за исключением Списка и Стандартов, вступивших в силу с 1 января 2005 года. Россия ратифицировала данный документ (Федеральный закон от 27.12.2006 N 240-ФЗ) (прим. автора).
15. Погосян Е.В. Формы разрешения спортивных споров: Монография. М.: Волтерс Клувер, 2011. 160 с.
16. Каменков В.С. Право о допинге в спорте // Спорт: экономика, право, управление. 2014. N 1. С. 24.
17. Стороны обязуются разрабатывать и осуществлять в случае необходимости в сотрудничестве с заинтересованными спортивными организациями и с привлечением средств массовой информации образовательные программы и кампании, показывающие опасность для здоровья, связанную с допингом, и наносимый им ущерб этическим ценностям спорта. Эти программы и кампании обращены как к молодежи в школьных учреждениях и спортивных клубах и их родителям, так и к взрослым спортсменам, спортивным руководителям и деятелям и тренерам. Для лиц, работающих в области медицины, эти образовательные программы подчеркивают важность соблюдения медицинской этики» (ст. 6 Европейской конвенции 1989 г.).

УДК 636.597

ХИТОЗАН: СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**Камская В.Е.***Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, e-mail:hooliganka-777@mail.ru*

В статье приводится информация по использованию хитозана, который представляет собой полидисперсный по молекулярной массе полимер D-глюкозамина содержащий 5-15% ацетамидных групп а также до 1% групп соединенных с аминокислотами и пептидами. Хитозан имеет уникальную биологическую активность, которая может индуцировать устойчивость к вирусным заболеваниям у растений, ингибировать вирусные инфекции у животных и предотвращать развитие фаговых инфекций в зараженной культуре микроорганизмов. Способность хитозана осветлять технологические жидкости используется в производстве соков, пива, вин, молочной сыворотке, промывных вод, фаршевого производства подпрессовых бульонов и других низко концентрированных жидкостей содержащих мелкодисперсные частицы органических соединений различной природы. Положительно заряженный хитозан взаимодействует с отрицательно заряженной кожей и волосами. На этой биоадизивной способности основано их применение в составе косметических средств. Проявление свойств сорбента и частично эмульгата обуславливает липофильный эффект хитозана. В отличие от растительной клетчатки и других сорбентов природного происхождения, хитозан действует более эффективно благодаря своей уникальной молекулярной структуре. Первичные аминогруппы хитозана либо его комплексов по эффективности связывание ионов тяжелых металлов и радионуклидов в десятки раз превосходят ионообменные смолы. В обзоре приводятся данные по испытанию свойств хитозана в экспериментах с сельскохозяйственными животными, выращиваемыми на загрязнённых кормах. Полученные результаты показали, что хитозан, введённый в рацион животных, питавшихся загрязнёнными кормами, позволил понизить уровень загрязнения молока и мяса подопытных животных.

Ключевые слова. хитозан, энтеросорбент, профилактика инфекций, продуктивность**CHITOSAN: STRUCTURE, PROPERTIES AND USING****Kamskaya V.E.***Bashkir State Agrarian University, Ufa, e-mail:hooliganka-777@mail.ru*

The article contains information on the use of chitosan, which is a polydisperse polymer by molecular weight D-glucosamine containing 5-15% acetamide groups and up to 1% of the groups linked to amino acids and peptides. Chitosan has unique biological activities that can induce resistance to viral diseases in plants, to inhibit viral infection in animals and prevent the development of phage infection in an infected culture of microorganisms. The ability of chitosan to clarify process fluids used in the production of juices, beer, wine, milk whey, wash water, minced production broths and other low concentrated liquid containing fine particles of organic compounds of different nature. The positively charged chitosan interact with negatively charged skin and hair. This capability is based their use in cosmetics. The manifestation of the properties of the sorbent and partly lipophilic emulsifier determines the effect of chitosan. In contrast to the plant fiber and other naturally occurring adsorbents, chitosan is more effective due to its unique molecular structure. The primary amino groups of chitosan or its complexes for efficient binding of ions of heavy metals and radionuclides in the tens of times greater than the ion exchange resins. The review presents data on testing of the properties of chitosan in experiments with farm animals are raised on contaminated feed. The results showed that chitosan, introduced in the diet of animals that ate contaminated feed, allowed to reduce the level of contamination of milk and meat in laboratory animals.

Keywords. chitosan, enterosorbent, infection prevention, productivity

Хитозан – природный полимер XXI века. Уникальные свойства хитина и хитозана привлекают внимание большого числа специалистов самых разных специальностей. Роль полимеров в нашей жизни является общепризнанной, и все области их применения в быту, промышленном производстве, науке, медицине, культуре трудно даже просто перечислить. Если до XX века человеком использовались полимеры природного происхождения – крахмал, целлюлоза (дерево, хлопок, лен), природные полиамиды (шелк), природные полимерные смолы на основе изопрена – каучук, гуттаперча, то развитие химии органического синтеза в XX веке привело к появлению в различных областях деятельности человека огромного разнообразия полимеров синтетического происхождения – пластмасс, син-

тетических волокон и т.п. Произошедший технологический прорыв не только кардинально изменил нашу жизнь, но и породил массу проблем, связанных с охраной здоровья человека и защитой окружающей среды.

Поэтому закономерным является большой интерес науки и промышленности к поиску и использованию полимеров природного происхождения, таких как хитин и хитозан. Эти полимеры обладают рядом интереснейших свойств, высокой биологической активностью и совместимостью с тканями человека, животных и растений, не загрязняют окружающую среду, поскольку полностью разрушаются ферментами микроорганизмов, могут широко применяться в проведении природоохранных мероприятий.

В основе получения хитозана лежит реакция отщепления от структурной единицы

хитина-N-ацетил-D-глюкозамина ацетильной группировки или реакция деацетилирования. Транс-расположение в элементарном звене макромолекулы хитина заместителей (ацетамидной и гидроксильной групп) у C2 и C3 обуславливает значительную гидролитическую устойчивость ацетамидных групп в том числе и в условиях щелочного гидролиза [18]. Поэтому отщепление ацетамидных групп удается осуществить лишь в сравнительно жестких условиях - при обработке 40-49% -ным водным раствором NaOH при температуре 110-1400С в течение 4-6 часов. Однако и в этих условиях степень деацетилирования (доля отщепившихся ацетамидных групп в расчете на одно элементарное звено) не достигает единицы, то есть не обеспечивается количественное удаление этих групп составляя обычно 0 8-0 9.

Реакция сопровождается одновременным разрывом гликозидных связей полимера т.е. уменьшением молекулярной массы изменением надмолекулярной структуры степени кристалличности и т.д. Таким образом, хитозан представляет собой полидисперсный по молекулярной массе полимер D-глюкозамина содержащий 5-15% ацетамидных групп а также до 1% групп соединенных с аминокислотами и пептидами. Процесс проводят обычно с помощью концентрированных щелочей при повышенных температурах. Первым опытом получения хитозана было сплавление хитина с твердой щелочью при 1800С. Этим способом получали продукт со степенью деацетилирования (СД) 95% но значительно деструктурированный (до 20 единиц).

Хитин и хитозан по своему строению близки к целлюлозе - одному из основных волокнообразующих природных полимеров. Естественно поэтому что как и целлюлоза эти полимеры и их производные обладают волокно - и пленкообразующими свойствами [9]. Благодаря биосовместимости с тканями человека низкой токсичности способности усиливать регенеративные процессы при заживлении ран биодegradуемости такие материалы представляют особый интерес для медицины. При лечении гнойных и ожоговых ран широкое применение приобрели ферменты эффективность использования которых может быть повышена за счет их включения в структуру волокон и губок. Такие полимеры как хитин хитозан карбоксиметилхитин благодаря широкому набору функциональных групп обеспечивают возможность образования между полимером-носителем и ферментом связей различной прочности что создает предпосылки для регулирования активности и стабильности фермента скорости его

диффузии в рану. В медицине для лечения и профилактики тромбозов используется природный антикоагулянт крови - гепарин по химическому строению являющийся смешанным полисахаридом. Наиболее близкий его структурный аналог - сульфат хитозана также обладает антикоагулянтной активностью возрастающей при увеличении степени сульфатирования. Возможность реализации синергического эффекта (усиления активности гепарина при введении добавок сульфата хитозана) делает это соединение перспективным для создания лекарственных препаратов антикоагулянтного и антисклеротического действия [4,8,13,23].

N- и O-сульфатированные производные частично деацетилированного карбоксиметилхитина не только препятствуют свертыванию крови благодаря селективной адсорбции антитромбина но и резко уменьшают интенсивность деления раковых клеток.

Одной из уникальных биологических активностей хитозана является его способность индуцировать устойчивость к вирусным заболеваниям у растений ингибировать вирусные инфекции у животных и предотвращать развитие фаговых инфекций в зараженной культуре микроорганизмов. Образование комплексов полимерными лигандами с различными металлами находит все более широкое применение в аналитической химии хроматографии биотехнологических процессах. Полимерные комплексообразователи в том числе хитин хитозан и их производные например карбоксиметилловые эфиры могут рассматриваться как реальная альтернатива традиционным методам очистки сточных вод промышленных предприятий от соединений металлов используемых для нанесения защитных покрытий (никель хром цинк) а также от таких металлов как ртуть и кадмий способных аккумулялироваться живыми организмами [25]. Наличие электронодонорных amino - и гидроксильных групп широкие возможности введения различных ионогенных групп кислотного и основного характера делают производные хитина и хитозана весьма перспективными для использования в хроматографии при разделении и очистке биологически активных соединений (нуклеиновых кислот и продуктов их гидролиза стероидов аминокислот).

Весьма перспективно использование хитозана в бумажной промышленности: благодаря большей прочности при водных обработках ионных связей образующихся при нанесении хитозана на целлюлозное волокно при формировании бумаги по сравнению с существующими в обычной бумаге водородными связями заметно возраста-

ет прочность бумажного листа особенно в мокром состоянии. При этом одновременно улучшаются и другие важные свойства (сопротивление продавливанию излому стабильность изображения). В последнее время все большее внимание уделяется исследованиям процессов образования изученных свойств и возможностей практического применения особого класса продуктов химических превращений полимеров - интерполимерных комплексов. Эти соединения образующиеся при взаимодействии макромолекул противоположно заряженных полиэлектролитов характеризуются высокой гидрофильностью что позволяет использовать их в качестве эффективных флокулянтов структурообразователей а в виде пленок в качестве полупроницаемых мембран и покрытий в том числе в медицине. Использование в качестве компонента интерполимерного комплекса сравнительно жесткоцепного хитозана способного благодаря наличию ионогенных групп к образованию межмолекулярных ион - ионных и ион - дипольных связей обеспечивает возможность улучшения физико-механических свойств получаемых пленок. Одним из направлений успешного использования таких пленок могут быть первапорационные процессы разделения водно-органических смесей. Так пленка на основе интерполимерного комплекса хитозан - полиакриловая кислота в процессе разделения методом первапорации водно - изопропанольной смеси не уступает по транспортным характеристикам пленкам из традиционных материалов (ацетат целлюлозы поливиниловый спирт) заметно превосходя их по селективности. Благодаря своим уникальным свойствам хитозан нашел применение в пищевой промышленности. Способность хитозана осветлять технологические жидкости используется в производстве соков пива вин молочной сыворотке промывных вод фаршевого производства подпрессовых бульонов и других низкоконцентрированных жидкостей содержащих мелкодисперсные частицы органических соединений различной природы. Проявление свойств сорбента и частично эмульгатора обуславливает липофильный эффект хитозана.

В технологии формованных изделий хитозан используется как структурообразующий агент повышающий значения реологических характеристик пищевых масс. Хитозан обладает редким свойством соединять в упорядоченную структуру фрагменты материалов различного влагосодержания: сухих с промежуточной влажностью и высоковлажных. Бактерицидное действие хитозана позволяет использовать

его при хранении различных видов пищевой продукции. Наиболее широко показано защитное действие пленок из хитозана нанесенных на поверхность плодов и овощей - яблок апельсинов земляники томатов перца. Поскольку плоды и овощи остаются живым организмом будучи отделенными от материнского растения они обладают определенным иммунитетом и в них проходят обменные процессы [5,8,12].

Однородные гибкие не дающие трещин хитозановые пленки обладают избирательной проницаемостью подобно другим полимерным покрытиям на поверхности плодов и овощей играют роль микробного фильтра и/или регулируют состав газов у поверхности и в толще тканей влияя тем самым на активность и тип дыхания что в целом способствует продлению сроков хранения растительного сырья. Помимо этого покрытие из хитозана вызывает некоторые морфологические изменения в возбудителях порчи томатов и перца. Пленка хитозана способствующая продлению срока хранения мороженого тунца вероятнее всего играет роль барьера регулирующего проникновение кислорода воздуха и испарение воды. Хитозан присутствуя в составе пищевых продуктов положительно влияет на их биологическую ценность. Кроме того хитозан относится к диетическим волокнам которые не усваиваются организмом человека а в кислой среде желудка образует раствор высокой вязкости. Как компонент пищи или как лечебно профилактический препарат хитозан проявляет свойства энтеросорбента иммуномодулятора антисклеротического и антиартрозного фактора регулятора кислотности желудочного сока ингибитора пепсина и др. [11].

Хитозан отличается от большинства природных и химически синтезированных гелеобразователей применяемых в косметике тем что при биологических значениях pH они имеют положительный заряд т.е. является поликатионом (если $\text{pH} < 6$). В этом заключается их преимущество перед полианионными гелеобразователями отрицательно заряженными при биологических значениях pH. Положительно заряженный хитозан взаимодействует с отрицательно заряженной кожей и волосами. На этой их биоадгезивной способности основано их применение в составе косметических средств. Кроме того биосовместимость хитозана с растительными экстрактами и другими компонентами используемыми в качестве полезных добавок и биологически активных ингредиентов открывает перспективы их использования для разработки новых средств для введения активных

компонентов в косметические рецептуры. Примером может служить технология создания гранул внутри которых содержатся биологически активные субстанции нестабильные в обычных условиях косметических производств и при хранении готовых изделий.

В настоящее время применение в животноводстве и птицеводстве энтеросорбентов является весьма актуальным направлением, поскольку качеству кормов уделяется большое внимание [10].

С сорбирующими свойствами хитозана связаны многие из вышеперечисленных биологических эффектов. В отличие от растительной клетчатки и других сорбентов природного происхождения, хитозан действует более эффективно благодаря своей уникальной молекулярной структуре. Молекула хитозана содержит большое количество аминогрупп, что позволяет ему связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд [6]. Кроме того, свободные аминогруппы и координационно связанные металлы определяют хелатообразующие (способность образовывать так называемые хелатные комплексы, прочно удерживающие металлы) и комплексообразующие свойства хитозана. Первичные аминогруппы хитозана либо его комплексов по эффективности связывания ионов тяжелых металлов и радионуклидов в десятки раз превосходят ионообменные смолы (Тесленко и др., 1992). Этим объясняют способность хитозана выводить из организма тяжёлые металлы и оказывать радиопротекторное действие за счёт разнообразных химических и электростатических взаимодействий. Свойство хитозана, связывать тяжёлые металлы и радионуклиды, было оценено в экспериментах с сельскохозяйственными животными, вырабатываемыми на загрязнённых кормах. Полученные результаты показали, что хитозан, введённый в рацион животных, питавшихся загрязнёнными кормами, позволил понизить уровень загрязнения молока и мяса подопытных животных. Имея мощный положительный заряд молекула хитозана вступают в связь с отрицательно заряженными молекулами жирных кислот непосредственно в пищеварительном тракте – до их усвоения. Иными словами, попадая в организм, хитозан «притягивает» липиды, связывает их, делая недоступными для усвоения, и выводит из организма, препятствуя тем самым образованию жировых отложений. Ученые называют хитозан «магнитом для жиров»: одна молекула хитозана способна связать молекул жира в 10-12 раз больше своего веса. Положительный заряд

хитозана обеспечивает связывание поступающего с пищей холестерина. Кроме того хитозан соединяется с желчной кислотой (с помощью которой происходит всасывание холестерина), выводит ее и холестерин пищи с каловыми массами. При этом холестерин крови, а также холестерин, поступающий с пищей, расходуется организмом для синтеза в печени желчной кислоты. Это еще один механизм снижения уровня холестерина при приеме хитозана.

Препараты хитозана в последнее время становятся все более востребованными в ветеринарии и животноводстве. Хитозан в ветеринарии применяется в двух направлениях: наружно в качестве ранозаживляющего и внутренне как энтеросорбент, противовоспалительный и бактериостатический агент, а также возможно его инъекционное введение в составе лекарственных и вакцинных препаратов. Из существующего в настоящее время широкого ассортимента полимерных покрытий на раны и ожоги рассасывающиеся покрытия в наибольшей степени отвечают всем медико-биологическим требованиям. Хитозан и его производные регулируют пролиферацию фибробластов и стимулируют нормальную регенерацию кожи. Болеутоляющее и антимикробное действие хитозана обусловлено его уникальной способностью неспецифически взаимодействовать с белковыми рецепторами и клеточной стенкой микроорганизмов. Одной из причин эффективности хитозана при заживлении ран является его стимулирующее воздействие на иммунную систему: его можно рассматривать как аналог липополисахаридов клеточных стенок микроорганизмов, выполняющих роль активаторов макрофагов. Для лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных применяются антибиотики, которые помимо антимикробного обладают иммунодепрессивным действием, а со временем у животных развивается резистентность к ним, и лечебный эффект теряется [24].

Хитозан при применении внутрь обволакивает стенки слизистой кишечника, обладает способностью адсорбировать в желудочно-кишечном тракте токсины и способствует выведению их из организма животных, обладает бактериостатическим действием. Хитозановые препараты позволяют ускорить и удешевить курс лечения, исключить или значительно уменьшить использование антибиотиков и сульфаниламидов, обладающих кумулятивным эффектом. В последние годы учеными различных стран проведен цикл исследований по применению в качестве адьюванта хитозана и

его модификатов в составе вакцин против листериоза, псевдомоноза, бруцеллеза, туберкулеза, ящура, гриппа и других инфекций [3]. Известен положительный опыт применения нанохитозана для повышения иммунного ответа при конструировании бруцеллезных вакцин [14]. Полученные результаты в большинстве случаев указывают на перспективность использования хитозана в иммунопрофилактике животных и человека.

Многочисленные научные исследования и производственный опыт свидетельствуют, что полноценная реализация генетического потенциала сельскохозяйственной птицы может быть достигнута за счет широкого использования биологически активных веществ и кормовых добавок природного происхождения [7-22]. С этой целью так же можно применить хитозан, обладающий рядом положительных свойств: иммунологической активностью, способностью улучшать обмен веществ, лечебно-профилактическим действием и т.д. [2-19].

Для стимуляции роста и микробиологической активности микроорганизмов-пробиотиков используют пребиотики- вещества природного или искусственного происхождения. Таким является природный полисахарид хитозан [9].

Хитозан использовали в комплексе с пробиотическими кормовыми добавками «Муцинол» и «Проваген» при откорме телят и поросят. Для достижения поставленной цели, были проведены научно-хозяйственные опыты. За животными ежедневно вели наблюдения, а так же определяли массу тела, упитанность и сохраненность поголовья. В начале научно-хозяйственного опыта животные не имели существенных различий по живой массе, что свидетельствует об идентичности сформированных групп [1].

В результате исследований проведенных в ОАО «Аграрная группа РОСТ», было установлено, что скармливание поросятам опытной группы испытуемых кормовых добавок оказало благоприятное влияние на клинические показатели крови. Комплекс пробиотика «Муцинол» с хитозаном положительно повлиял на белковый обмен поросят опытной группы. Повышение уровня белка в сыворотке крови поросят опытной группы свидетельствует о более интенсивных окислительно-восстановительных процессах в их организме и указывает на усиление белоксинтезирующей функции печени.

В опыте на телятах изучение микробиоценоза толстого кишечника подопытных животных показало, что выпивание в течение 7 суток пробиотика «Проваген» с

хитозаном обусловило тенденцию к оптимизации в содержимом толстого кишечника телят уровня типичных эшерихий, кроме того, у животных опытной группы отмечено повышение вылового прироста на 9,59% и среднесуточных приростов живой массы на 9,62 %.

Таким образом, результаты двух научно-хозяйственных опытов свидетельствуют об эффективности применения хитозана в комплексе с пробиотическими кормовыми добавками при откорме телят и поросят.

Так же в проведенном исследовании в ООО «Птицефабрика «Орская» с использованием корма с добавкой хитозана, было выяснено, что он оказал позитивное влияние на массу мышц в тушках утят. Введение в рацион утят хитозана способствовало улучшению биологической ценности мяса [20].

Природный полимер добавляли и в корм козлятам. При выращивании и разведении козлят достаточно часто возникает необходимость предотвращения возникновения желудочно-кишечных заболеваний различной этиологии. Избежать подобных заболеваний, особенно часто проявляющихся в стрессовые периоды выращивания молодняка, предпочтительнее проведением профилактических мероприятий. Одним из них является добавление в рацион животных биологически активных кормовых добавок. В этом направлении определенный интерес представляет хитозан. В силу особенности химической структуры данный полимер способен во влажной среде при определенных значениях pH среды набухать и проявлять абсорбционные свойства. Эти способности в полной мере могут проявляться в кишечнике, хитозан, обволакивая ворсинки стенок, препятствует прикреплению и развитию неблагоприятной микрофлоры.

В Ставропольском НИИ животноводства и кормопроизводства разработана технология получения хитозан-меланинового комплекса (ХМК) из подмора пчёл. На основе ХМК, для усиления его действия при профилактике желудочно-кишечных заболеваний молодняка с.-х. животных и учитывая явление синергизма, разработана рецептура экспериментального препарата, включающего глюкозу, лактозу, пробиотик, витамин С, сухие экстракты трав. Действие полученного в лабораторных условиях хитозан-меланинового комплекса (ХМК) из подмора пчёл и препарата на его основе на молодняк с.-х. животных было исследовано при выпаивании их новорожденным козлятам зааненской породы. Полученные результаты свидетельствуют, что применение ХМК и препарата на его основе способствовало снижению заболеваемости и особенно

повышению сохранности козлят. Так, если в опытных группах регистрировалось от 10 до 20% животных с признаками желудочно-кишечных расстройств, то среди козлят контрольной – 40,0%, соответственно профилактическая эффективность колебалась в разных опытных группах от 20,0 до 30,0%.

Лучшая сохранность животных, по-видимому, объясняется повышением защитных сил организма козлят при использовании ХМК и препарата на его основе, о чем свидетельствуют результаты биохимических исследований крови и уровня естественной резистентности. Выявлено, что у животных опытных групп достоверно повышалось содержание гемоглобина, лизоцимная, бактерицидная активность сыворотки крови и фагоцитарная активность нейтрофилов, в среднем соответственно на 11,4; 10,3; 35,4 и 56,3%. Положительным действием ХМК и препарата на его основе отмечали и при анализе динамики живой массы козлят до 2-месячного возраста. В ранний период онтогенеза (до 20 дней) наибольшая разница отмечена между контрольными животными и козлятами II и III групп: на 25,6 и 18,1%. В дальнейшем – в 40 дней и два месяца – животные опытных групп практически не отличались по живой массе между собой, достоверно ($P < 0,01$) превосходя козлят контрольной в среднем на 30,2 и 32,1%. При этом во все учтенные периоды животные опытных групп отличались от контрольных значительно большими среднесуточными приростами – в среднем на 47,9; 98,2 и 35,6% ($P < 0,01$)

Таким образом, для профилактики желудочно-кишечных заболеваний, повышения естественной резистентности, сохранности и живой массы козлят целесообразно выпаживание новорождённым козлятам хитозан-меланинового комплекса в дозе 15 мг на 1 кг живой массы и препарата на его основе [17].

В результате выше описанных исследований, можно сказать, что хитозан эффективен в применении с комплексом пробиотических кормовых добавок при откорме телят и поросят, влияния при вскармливании на клинические показатели крови в состав рациона. Комплекс пробиотика «Муцинол» с хитозаном положительно повлиял на белковый обмен [21]. Так же повышение уровня белка в сыворотке крови поросят свидетельствует о более интенсивных окислительно-восстановительных процессах в их организме и указывает на усиление белоксинтезирующей функции печени. Применение хитозана на сельскохозяйственных животных и птицы оказывает положительное действие на обменные процессы в организме, что способствует увеличению продуктивности.

Список литературы

1. Авзалов Р.Х. Использование энтеросорбентов в рационах родительского стада уток / Р.Х. Авзалов, Т.А. Седых, Р.С. Гизатуллин // Вестник Башкирского аграрного университета. - 2015. - №2 (34). - С.24-28. 1
2. Албулов А. И. Хитозан как новый природный энтеросорбент для ветеринарии и животноводства / А.И. Албулов, М.А. Фролова, Ж.Ю. Мурадян // Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности. -2007. - С.6-8 2
3. Андреева А.Е. Использование энтеросорбента приминкор в рационах ремонтного молодняка уток / А.Е. Андреева, Т.А. Седых, Ф.С. Хазиахметов, Р.С. Гизатуллин // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - № 2. - С. 751.3
4. Бакаева Л.Н. Биологическая ценность мяса цыплят-бройлеров / Л.Н. Бакаева, Г.М. Топурия // Инновации, экобезопасность, техника и технологии в переработке с.-х. продукции: матер. 2 всерос. науч.-практич. конф. Уфа, 2011. - С. 109.4
5. Бакаева Л.Н. Показатели химического состава цыплят под действием хитинсодержащего препарата / Л.Н. Бакаева, Г.М. Топурия // Актуальные вопросы развития пищевой промышленности: матер. всерос. науч.- практич. конф. Челябинск, 2011. - С. 9-11. 5
6. Бикмиев Д.Р. Рост и развитие молодняка уток при включении в рацион энтеросорбента Приминкор (статья) / Д.Р. Бикмиев, Т.А. Седых // Современные наукоемкие технологии. - 2013. - № 9. - С. 10-11.
7. Братская С.Ю. Коллоидно-имические свойства хитозана / С.Ю. Братская, М.В. Шаповалов, Д.В. Червонецкий // Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век. Тезисы докладов Всероссийской конференции молодых ученых. – Владивосток: ТИНРО- Центр, 2001. – С. 120–122. 6
8. Быкова, В.М. Сырьевые источники и способы получения хитина и хитозана: Хитин, его строение и свойства / В.М. Быкова, С.В. Немцев // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. – М.: Наука, 2002. – С 7-10. 7
9. Гальбрайт Л.С. Модифицированные волокнистые и пленочные материалы / Л.С. Гальбрайт // Химические волокна. – 2005. - №5. – С.21-27. 8
10. Гамыгин Е.А. Новые комбикорма для аква-культуры / Журнал «Зооиндустрия» / Гамыгин Е.А., Передня А.А., Шоль А.В. // ВЕТТОРГ-портал: [сайт]. URL: www.vettorg.net/magazines/3/2001/30/84/ (дата обращения: 03.10.2016).9
11. Гладышев Д.Ю. Строение и фракционный состав карбоксиметилового эфира хитозана / Д.Ю. Гладышев и [др.] // Высокомолекулярные соединения. – 1990. – Т.32Б. - №7. – С.503-505. 10
12. Горовой Л.Ф. Сорбционные свойства хитина и его производных: Хитин его строение и свойства / Л.Ф. Горовой В.Н. Косяков // Хитин и хитозан. Получение свойства и применение. – М.: Наука 2002. – С.217-246. 11
13. Гумеров И.Р. Воспроизводительные качества уток при включении в рацион препаратов Микосорб и Приминкор (статья) / И.Р. Гумеров, Т.А. Седых // Современные наукоемкие технологии. - 2013. - № 9. - С. 12.
14. Гумеров И.Р., Воспроизводительные качества уток при включении в рацион препаратов микосорб и приминкор / И.Р. Гумеров, Т.А. Седых // Современные наукоемкие технологии. - 2013. - № 9. - С. 12. 12
15. Злобин, С.В. Оптимизация использования пробиотиков Субтилис в промышленном свиноводстве / С.В. Злобин // Веткорм. - 2008. - №5. – С. 26-27. 13
16. Интенсификация производства мяса уток (монография) / Р.Р. Галиев, Т.Ф. Саитабатов, Т.А. Седых / Уфа: Издательство БГАУ, 2009. – 208 с.
17. Кильдеева Н.Р. Получение материалов медицинского назначения из растворов биосовместимых полимеров / Н.Р. Кильдеева Л.С. Гальбрайт Г.А. Вихорева // Химические волокна. – 2005. - №6. – С.21-24. 14

18. Миронов А.В. Получение гранулированного хитозана / А.В. Миронов и [др.] // Химические волокна. – 2005. – №1. – С.26-29. 15
19. Пантюхин А.В. Разработка оптимальной технологии и исследование процесса микрокапсулирования гидрофобных веществ // М.: Вестник ВГУ. – Серия: Химия, Биология, Фармация. – 2006. – № 2. – С. 338–339. 16
20. Седых Т.А. Мясная продуктивность уток при включении в рацион энтеросорбента Преминкор (статья) / Т.А. Седых // Аграрная наука – основа успешного развития АПК и сохранения экосистем. Материалы Международной научно-практической конференции (31 января – 2 февраля 2012 г.). – Волгоград: Волгоградский ГАУ, 2012. – С. 203-204.
21. Седых Т.А. Продуктивность и естественная резистентность уток при интенсивной технологии выращивания (статья) / Т.А. Седых // Аграрный вестник Урала. - №8. – 2012. – С. 33-37.
22. Система машин и оборудования для реализации инновационных технологий в растениеводстве и животноводстве Республики Башкортостан / под общ. ред. И.И. Габитова, С.Г. Мударисова, Г.П. Юхина, В.Г. Самосяка. – Уфа: Башкирский ГАУ, 2014. – С. 159-187
23. Степнова Е.А. биологически активные амфифильные производные хитозана / Е.А. Степнова и [др.] // Химические волокна. – 2005. - №6. – С.57-58. 17
24. Топурия Л.Ю., Топурия Г.М. Эффективность применения хитозана в качестве иммуностимулятора для сельскохозяйственных животных и птиц // Ветеринарное дело. 2010. № 1. С. 61-68. 18
25. Шамшуринов Д.В. Хроматографические свойства силикагелей модифицированных хитозаном и его производными / Д.В. Шамшуринов Е.Н. Шаповалова О.А. Шпигун // Вестник Московского университета. – 2004. – Сер.2. – Химия. – Т.45. - №3. – С.180-185. 19

УДК 57.013:544

АМИНОКИСЛОТЫ, КАК БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ, В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ**Миняева О.А.***ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет,
e-mail: kanc@chelsma.ru*

Рассмотрена биологическая роль алифатических аминокислот линейного строения для организма человека и произведен комплексный анализ коллигативных и вязкостных характеристик водных растворов указанных аминокислот. Показана актуальность исследования данных характеристик, поскольку многокомпонентные растворы аминокислот используются в медицине и фармации в виде инфузионных растворов в качестве источников для парентерального питания, а к данным лекарственным формам предъявляются требования изотоничности и изовязкости крови человека. Водные растворы индивидуальных аминокислот (глицина, β-аланина, ε-аминокапроновой кислоты, глутаминовой кислоты) характеризуются линейным изменением коллигативных и вязкостных свойств с ростом концентрации вплоть до достижения предела растворимости. Определены уравнения линейной регрессии соответствующих зависимостей. По величинам коэффициентов корреляции Пирсона доказано существование достоверной корреляционной связи между концентрацией аминокислот и температурами замораживания растворов, осмотическим давлением, кинематической, динамической и относительной вязкостью.

Ключевые слова: аминокислоты, биологическая роль, вязкость растворов, коллигативные свойства

AMINO ACIDS AS BIOLOGICAL OBJECTS IN AQUEOUS SOLUTIONS**Minyaeva O.A.***South Ural State Medical University, Chelyabinsk, e-mail: kanc@chelsma.ru*

The biological role of aliphatic amino acids with linear structure for human organism is discussed. Complex analysis of colligative and viscosity characteristics of aqueous solutions said amino acids is produced. Investigations relevance these characteristics is presented as multicomponent amino acids solutions are used in pharmacy and medicine as an infusion solutions for parenteral nutrition sources. These medicinal forms are to be identical on osmotic characteristics and viscosity with parameters of human blood. Aqueous solutions of individual amino acids (glycine, β-alanine, ε-aminocaproic acid, glutamic acid) are characterized by a linear variation of viscosity and colligative properties with increasing concentrations until reaching the solubility limit. Linear regression equation of corresponding dependencies is defined. The existence of a reliable correlation between the concentration of amino acids and freezing temperatures of solutions, osmotic pressure, kinematic, dynamic and relative viscosity is proved by the Pearson correlation coefficient.

Keywords: amino acids, biological role, solutions viscosity, colligative properties

Аминокислоты как основные составные части белков участвуют во всех жизненных процессах наряду с нуклеиновыми кислотами, углеводами и липидами. При попадании в живой организм аминокислоты сразу же включаются в биохимические процессы [8]. Биохимические процессы, как химические реакции, сопровождаются изменением общей энергии системы, т.е. энергии живого организма. Функции аминокислот в системах живых организмов схематично показаны на рис. 1. Большинство α-аминокислот обладают широким спектром биологической активности. Так, лизин, треонин, фенилаланин, тирозин, аспарагин, глутамин, глицин, серин, аргинин являются исходными веществами для синтеза антител, гормонов, ферментов и других веществ. Аланин участвует в метаболизме сахаров и органических кислот. Метионин, триптофан, лизин, аргинин способствуют снижению уровня холестерина в крови, выведению тяжелых металлов из организма (метионин,

цистеин), росту и восстановлению тканей (гистидин, изолейцин, лейцин, глицин, серин, пролин). α-Аминокислоты служат источником энергии на клеточном уровне (валин, лейцин, изолейцин, глутамин). Серосодержащие аминокислоты – метионин, цистеин – являются донорами серы, достаточное содержание которой в организме способствует полноценному формированию волос, кожи и ногтей. Эти аминокислоты принимают участие в создании вторичной структуры белков за счет образования дисульфидных мостиков [8].

Рассмотрим биологическую роль алифатических аминокислот линейного строения – глицина, β-аланина и ε-аминокапроновой кислоты – для организма человека. Глицину принадлежит важнейшая роль в деятельности мозга, поскольку глицин участвует в образовании важнейших биологически активных соединений (пуриновых нуклеотидов, гема, креатина и др). Глицин выполняет функцию тормозного нейромедиатора

и контролирует процессы формирования тонкой моторики пластических процессов и тонусных реакций поперечнополосатой мускулатуры. Поэтому в неврологической практике глицин широко используется для устранения повышенного мышечного тонуса [1]. В организме человека основная масса глицина сконцентрирована в спинном мозге. Глицин является регулятором обмена веществ, нормализует и активирует процессы защитного торможения в центральной нервной системе. Глицин обладает адreno-блокирующим, антиоксидантным и анти-токсическим действием, за счет чего уменьшает психоэмоциональное напряжение, агрессивность, конфликтность, улучшает настроение, повышает социальную адаптацию; повышает умственную работоспособность; облегчает засыпание и нормализует сон; уменьшает проявления вегетосудистых расстройств в целом и выраженность общемозговых расстройств при ишемическом инсульте и черепно-мозговых травмах; уменьшает токсическое действие алкоголя и других лекарственных средств, угнетающих функцию центральной нервной системы.

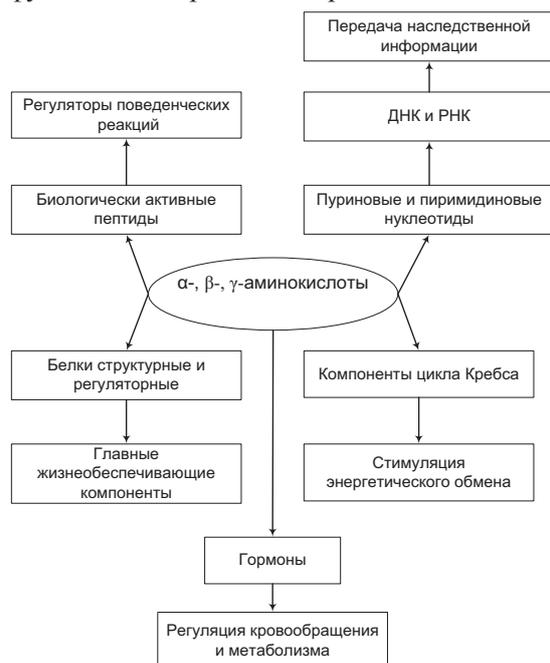


Рис. 1. Функции аминокислот в живом организме

Аминокислота β-аланин синтезируется в организме человека, поэтому не является незаменимой. Биологическая роль β-аланина заключается в его участии в синтезе пантотеновой кислоты (витамина В5), которая необходима для синтеза ацилкоэнзима А. В свою очередь ацилкоэнзим А необходим для ферментов цикла карбоновых кислот (цикл Кребса) и жизненно не-

обходим для синтеза основного субстрата энергетического метаболизма – аденозинтрифосфата АТФ. β-Аланин участвует нормализации терморегуляции и способствует стабилизации энергетического метаболизма за счет увеличения содержания пантотеновой кислоты, является важнейшим координатором фонда возбуждающих и тормозных нейромедиаторов, повышает дыхательную активность нейроцитов, ускоряет утилизацию глюкозы и улучшает кровообращение. β-аланин широко используется в медицинской практике для лечения мигреней, цереброваскулярной недостаточности и других заболеваний нервной системы, связанных с нарушением кровообращения [1, 2, 8]. Данная аминокислота обладает выраженным диуретическим действием и при этом выгодно отличается от классических диуретических средств, так как не требует коррекции электролитов [1].

ε-аминокапроновая кислота не входит в перечень 20-ти аминокислот, из которых построены белки организма человека. При этом ε-аминокапроновая кислота проявляет выраженную биологическую активность, которая для организма человека заключается в активизации детоксикационной функции печени, проявлении противоаллергического действия, в специфическом кровоостанавливающем действии при кровотечениях (обеспечивает стабилизацию фибрина и его отложение в сосудистом русле, способствует агрегации тромбоцитов и эритроцитов крови).

Живые организмы, в том числе и человеческий организм, характеризуются высоким содержанием воды. При протекании биохимических процессов происходит расходование реагентов и образование продуктов реакции, поэтому любая биохимическая реакция сопровождается изменением концентрации целого набора веществ, а значит, возможны изменения осмотических характеристик и вязкостных свойств биологических жидкостей [3-7, 10, 12]. Из литературных данных [10] известно, что структура биологических жидкостей характеризуется наличием дальнего порядка, т.е. помимо согласованного взаимного расположения и ориентации близко расположенных групп и сегментов молекул (ближний порядок) проявляется согласованное действие молекул определенного функционального назначения. При этом молекулы биологических жидкостей не только перемещаются на определенные расстояния, но и принимают необходимую пространственную ориентацию [10]. Это в свою очередь также находит отражение на коллигативных и вязкостных характеристиках биологических жидкостей.

Биологические объекты – аминокислоты, белки, пептиды – являются сырьем для производства лекарственных препаратов: препараты крови и плазмы крови, препараты, содержащие определенный набор аминокислот, биологически активные добавки, включающие лецитин, витамины, ферменты, энзимы и т.д. Препараты аминокислот широко представлены как в ассортименте пищевых и биологически активных добавок, так и в ассортименте лекарственных веществ. Комплексными препаратами аминокислот являются инфузионные растворы («Аминостерил», «Аминоплазмаль», «Инфезол», «Ликвамин» и т.д.) или сухие смеси для спортивного питания. Индивидуальные аминокислоты входят в состав таблеток («Глицин Форте», «Клималанин» и т.д.), глазных капель («Тауфон»), растворов для инъекций («Тауфон», «Карнитен»), порошков («Левокарнитин», «Треонин», «Цистин» и т.д.).

В связи с этим **целью данного исследования** является обобщение и комплексный анализ коллигативных и вязкостных характеристик водных растворов аминокислот линейного строения.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали водные растворы аминокислот: глицина, β-аланина, ε-аминокапроновой кислоты и глутаминовой кислоты. Определение температуры замерзания проводили на автоматическом криоскопическом осмометре ОМТ–5–02. Предварительно прибор калибровали с помощью серии растворов рабочих стандартных образцов натрия хлорида. Испытуемые растворы различной концентрации помещали в кювету прибора, погружали в термостат с контролируемой температурой и замораживали. Осмолярность раствора автоматически определяется по фиксированной температуре замерзания.

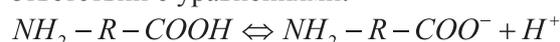
Определение вязкости термостатированных при 25°C растворов аминокислот проводили при помощи вискозиметра ВПЖ-2, диаметр капилляра 0,73 мм, константа капилляра 0,03045.

Обсуждение результатов

Охарактеризовать свойства растворов веществ с точки зрения их совместного присутствия позволяет криоскопический метод. При замораживании растворов оценивается изменение температуры замерзания раствора по сравнению с чистым растворителем, эффективная осмотическая концентрация растворенного вещества и осмотическое давление. Эти показатели, отражающие коллигативные свойства рас-

творов, являются одними из важнейших для систем, применяемых для парентерального введения [1, 2].

Коллигативные свойства растворов в целом определяются общей концентрацией осмотически активных частиц. Проанализируем, как изменяется число частиц в водном растворе, содержащем аминокислоту. Молекулы аминокислот имеют в своем составе карбоксильную группу и аминогруппу, а поэтому являются амфолитами [8]. Диссоциация карбоксильной группы и протонирование аминогруппы протекает в соответствии с уравнениями:



Возможен перескок протона от карбоксильной группы к аминогруппе и образование биполярного цвиттер-иона в соответствии с уравнением:



Сила молекул аминокислот как кислот и как оснований характеризуется константами диссоциации [5-7]. Константы диссоциации глицина, β-аланина и ε-аминокапроновой кислоты по типу кислоты или основания составляют величины порядка 10⁻¹⁰–10⁻¹¹ независимо от расположения аминогруппы. Значения констант диссоциации очень малы, а, значит, диссоциация карбоксильной группы и/или протонирование аминогруппы в водных растворах протекают крайне незначительно. Реакция образования цвиттер-иона не сопровождается увеличением числа частиц. Изучение осмотических характеристик растворов глицина и β-аланина показывает, что эффективная осмотическая концентрация частиц, выраженная в единицах молярности, практически совпадает с аналитически рассчитанной молярной концентрацией аминокислот [5-7]. Значит, увеличения числа частиц в растворе не происходит, и при анализе осмотических характеристик растворов данных аминокислот не нужно учитывать процессы, изменяющие число частиц (диссоциацию, протонирование или образование ионных ассоциатов). Аналогичные результаты получены для глутаминовой кислоты, которая является двухосновной аминокислотой линейного строения и имеет существенно меньшую растворимость в воде и существенно большую константу диссоциации одной из карбоксильных групп (Ka1=3,09·10⁻⁵) [8]. Экспериментально установлено, что для индивидуальных аминокислот в водных растворах характерно линейное понижение температуры замерзания и линейное увеличение осмотического давления с ростом

Таблица 1

Уравнения линейной аппроксимации и коэффициенты корреляции для вязкости глицина, β-аланина и ε-аминокапроновой кислоты.

Вязкость	Глицин	β-аланин	ε-аминокапроновая кислота
Кинематическая	$\nu=0,935+0,0170 \cdot C_{\%}$ R=0,99	$\nu=0,930+0,0320 \cdot C_{\%}$ R=0,99	$\nu=0,90+0,051 \cdot C_{\%}$ R=0,98
Динамическая	$\eta=0,880+0,0200 \cdot C_{\%}$ R=0,99	$\eta=0,89+0,038 \cdot C_{\%}$ R=0,99	$\eta=0,84+0,049 \cdot C_{\%}$ R=0,97
Относительная	$\eta_{\text{отн}}=0,826+0,0200 \cdot C_{\%}$ R=0,99	$\eta_{\text{отн}}=0,84+0,036 \cdot C_{\%}$ R=0,99	$\eta_{\text{отн}}=0,79+0,047 \cdot C_{\%}$ R=0,97

концентрации аминокислоты вплоть до достижения предела растворимости (рис. 1, 2). Двухкомпонентные смеси низкомолекулярных аминокислот проявляют коллигативные свойства, аналогичные индивидуальным аминокислотам, т.е. сохраняется тенденция линейного изменения температуры замерзания растворов и осмотического давления с коэффициентами корреляции не ниже 0,99.

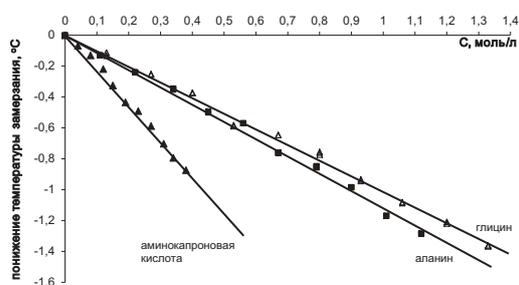


Рис. 1. Температура замерзания водных растворов одноосновных алифатических аминокислот

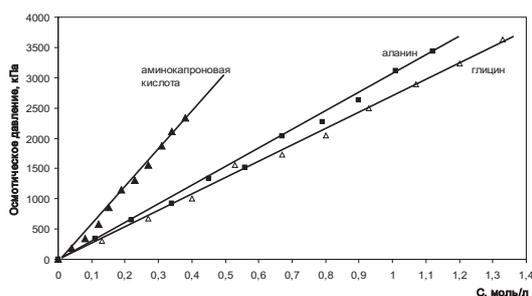


Рис. 2. Осмотическое давление водных растворов одноосновных алифатических аминокислот

Анализ вязкостных характеристик водных растворов алифатических аминокислот показывает, что для них характерна тенденция линейного изменения кинематической, динамической и относительной вязкости с ростом концентрации аминокислот и тенденция определенного влияния длины углеводородной цепи молекулы на вязкостные характеристики растворов. Наиболее

выраженное влияние на вязкость растворов среди аминокислот линейного строения оказывает ε-аминокапроновая кислота. Каждый 1% ε-аминокапроновой кислоты в растворе увеличивает показатели кинематической, динамической и относительной вязкости на величину порядка 0,050 [11]. Глицин и β-аланин являются короткоцепочечными аминокислотами и характеризуются показателями увеличения вязкости на уровне 0,020 и 0,036 на каждый 1% аминокислоты соответственно (таблица 1). Корреляционную связь между характеристиками вязкости и концентрацией аминокислот следует оценивать как сильную и достоверную [9] согласно величине коэффициентов корреляции Пирсона, по модулю входящих в интервал [0,7; 1].

Выводы:

1. Выявлена общая тенденция линейного изменения коллигативных и вязкостных свойств водных растворов таких биологических объектов, как алифатические аминокислоты. Значимое отличие от растворов низкомолекулярных кислот — глицина и β-аланина — демонстрируют растворы ε-аминокапроновой кислоты, что может быть связано с наложением молекулярных характеристик (линейного размера молекулы) на свойства, определяемые общим числом частиц в растворе.

2. Тенденция линейного изменения коллигативных свойств сохраняется, если в водных растворах присутствуют двухкомпонентные смеси аминокислот.

Список литературы

1. Белоусов Ю.Б., Кукес В.Г., Лепехин В.К., Петров В.И. Клиническая фармакология: национальное руководство. - М.: ГЭОТАР-Мед. - 2014. - 976 с.
2. Ерпулёва Ю. В. Аминокислоты и микроэлементы в парентеральном питании у детей / Журнал Лечащий врач. - 2013. - № 3 - С.51-54.
3. Миняева О.А. Структура и некоторые свойства гелеобразных оксигидратов иттрия и гадолиния // Коллоидный журнал, 2001. - Т. 63. - №4. - С. 476-481.
4. Миняева О.А., Ботова Д.И., Нелюбина Е.С. Концентрационные зависимости вязкости белковых систем и рефрактометрический анализ растворов белков. // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 6. - URL: www.science-education.ru/120-15323.

-
5. Миняева О.А., Сафонов В.И. Некоторые общие закономерности изменения коллигативных и рефрактометрических свойств водных растворов низкомолекулярных аминокислот и водорастворимых витаминов // Бутлеровские сообщения, 2016. – т. 46. - №6. – С. 124-128.
6. Миняева О.А., Сидорченко А. С., Зацепина М.Н., Григорьева У.А., Сафонов В.И. Коллигативные свойства водных растворов низкомолекулярных аминокислот линейного строения // Успехи современного естествознания. – 2015. – №7. – С. 27-32.
7. Миняева О.А., Хисматуллина А.Р., Джафарова Т.Р., Тупкало Н.А., Якушева В.А., Пуховская К.С. Закономерности изменения вязкости водных растворов некоторых алифатических аминокислот // Рациональное питание, пищевые добавки и биостимуляторы, 2016. - №3. – С. 22-26.
8. Нельсон Д., Коке М. Основы биохимии Ленинджера. В 3-х томах. Т.1. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012.- 694 с.
9. Применение методов статистического анализа для изучения общественного здоровья и здравоохранения: Учебное пособие для вузов / Под ред. чл.-корр. РАМН, проф. В.З. Кучеренко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011 – 256 с.
10. Принципы структурной организации белков / Г. Шульц, Р. Ширмер; под ред. Е.М. Попова. – М.: Мир, 1999. – 355 с.
11. Сафонов В.И., Миняева О.А. Математический анализ функциональных зависимостей вязкости биологических систем // Сборник «Наука ЮУрГУ»; секция «Естественные науки». - Челябинск: Издательский центр ЮУрГУ, 2015. – С. 455-460.
12. Сухарев Ю.И., Миняева О.А. О механизме автоволевого структурирования полимерных гелевых систем // Сб. статей межд. науч.-техн. конф. «Перспективные химические технологии и материалы». – Пермь, Изд-во: ПермГТУ, 1998. – С. 78-81.

УДК 57.011

МЕТОД ГРАССБЕРГЕРА-ПРОКАЧЧИА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФРАКТАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУРЫ

Носовский А. М., Сидоренко Л. А.

ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, e-mail: collega1952@yandex.ru

В нелинейной механике состояние системы в многомерном пространстве описывается фазовой траекторией. Которая с течением времени стремится к некоторому его подмножеству, который называется аттрактором динамической системы. Его размерность меньше чем исходное фазовое пространство. Структура данного подмножества может быть чрезвычайно сложной, но самоподобной на различных масштабах. Геометрические свойства таких множеств характеризуются понятиями фрактальных размерностей. В нашем случае представляет интерес корреляционная размерность, поскольку её значительно проще вычислять, по сравнению с другими, и она даёт хорошую характеристику сложности аттрактора. Построив зависимость $\log C(\varepsilon)$ от $\log \varepsilon$ можно по наклону линейного участка этой кривой рассчитать величину корреляционной размерности. Показано, что процесс восстановления ультраструктуры ресничек и строения эпендимальных клеток в период реадaptации крыс к горизонтальному положению указывает, по-видимому, на восстановление оттока цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) из желудочков. Значительно менее выраженные деструктивные изменения эпендимальных клеток при повторном 14-суточном АНОП (по сравнению с первичным 14-суточным) свидетельствует о том, что при повторном АНОП, несмотря на повторное перераспределение крови в краниальном направлении, повышение давления в желудочках мозга стало меньшим, чем при первичном АНОП, возможно, в результате повышения эффективности механизма оттока ЦСЖ через Пахитоновы грануляции. Результаты проведенного исследования в целом совпадают с обнаруженной ранее минимализацией изменений в сосудах мозга крыс при отставленном на длительное время повторном моделировании эффектов невесомости.

Ключевые слова. фрактальный анализ, адаптация, антиортостатическое положение

METHOD FOR PROCACCI GRASSBERGER-DETERMINATION OF THE FRACTAL INDICATORS MORPHOLOGICAL STRUCTURES

Nosovsky A.M., Sidorenko L.A.

FGBUN State scientific center of the Russian Federation Institute of medicobiological problems of RAS, Moscow, e-mail: collega1952@yandex.ru

In nonlinear mechanics the state of the system in the multidimensional space describes the phase trajectory. Which over time seek to some subset of it, called the attractor of the dynamic system. Its dimension is less than the original phase space. The structure of this subset can be extremely difficult, but self-similar at different scales. Geometric properties of such sets are characterized by the notions of fractal dimensions. In our case of interest is the correlation dimension, since it is much easier to compute compared to others, and it gives a good characterization of the complexity of the attractor. Build dependency $\log C(\varepsilon)$ $\log \varepsilon$ possible from the slope of the linear section of this curve to calculate the magnitude of the correlation dimension. It is shown that the process of recovery of the ultrastructure of cilia and structure of the ependymal cells in the period of re-adaptation of rats to the horizontal position indicates, apparently, the recovery of the outflow of CSF from the ventricles. A much less pronounced destructive changes in the ependymal cells in repeated 14-day ANOP (compared to the initial 14 hours of power) evidenced by the fact that when re-ANOP, despite repeated blood redistribution in the cranial direction, the pressure increase in the ventricles of the brain was smaller than in primary ANOP, perhaps as a result of increasing the efficiency of the mechanism of CSF outflow through Pohnitnova granulation. The results of the study are largely consistent with previously discovered by minimizing changes in the blood vessels of the brain of rats during delayed for a long time re modeling of the effects of weightlessness.

Keywords: fractal analysis, adaptation, antiorthostatic position

В нелинейной механике состояние системы в многомерном пространстве описывается фазовой траекторией. Которая с течением времени стремится к некоторому его подмножеству, который называется аттрактором динамической системы. Его размерность меньше чем исходное фазовое пространство. Структура данного подмножества может быть чрезвычайно сложной, но самоподобной на различных масштабах. Геометрические свойства таких множеств характеризуются понятиями фрактальных размерностей. В нашем случае представ-

ляет интерес корреляционная размерность, поскольку её значительно проще вычислять, по сравнению с другими, и она даёт хорошую характеристику сложности аттрактора. Корреляционная размерность есть предел:

$$\log C(\varepsilon)$$

$$D = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\log C(\varepsilon)}{\log \varepsilon}$$

$$\varepsilon \rightarrow 0$$

если данный предел существует. Это утверждение основывается на теореме Такенса [1].

Построив зависимость $\log C(\epsilon)$ от $\log \epsilon$ можно по наклону линейного участка этой кривой рассчитать величину корреляционной размерности. Для проведения этой оценки необходимо, чтобы выполнялось условие $C(\epsilon) = \text{const} \cdot \epsilon^D$. Поскольку временной ряд ограничен, то линейность графиков корреляционного интеграла может нарушаться на больших масштабах. На малых масштабах искажения связаны с дискретностью данных.

Табличный метод фрактального анализа (рис.1) заключается в разделении изображения на сектора ячейки с последующим подсчетом количества секторов, потребовавшихся для покрытия всего изображения.

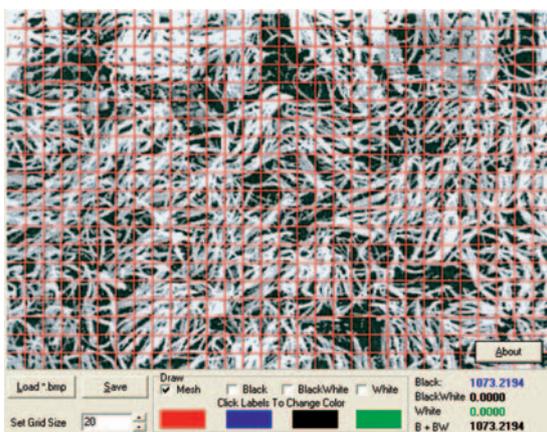


Рис 1. Табличный метод фрактального анализа

Повторение данного действия с использованием секторов разной размерности позволят построить логарифмическую функцию зависимости размера секторов (Ось X) и количества секторов, необходимых для покрытия всего изображения (Ось Y).

Крутизна этой функции будет отображать размерность сектора. Размерность сектора считается максимально приближенной к фрактальной размерности.

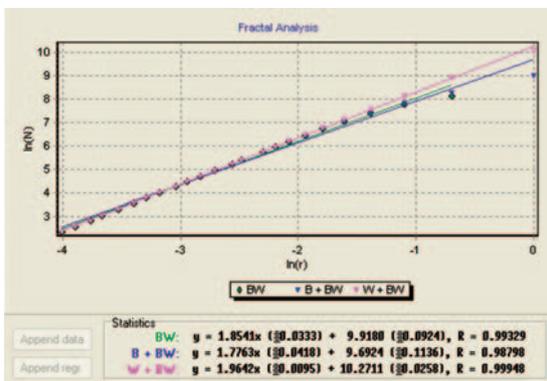


Рис 2. Графическое определение фрактальной размерности, заданной в табличной форме

Актуальность исследования заключается в возможности математического описания морфологических структур при перераспределении жидких сред в краниальном направлении у крыс, находящихся в антиортостатическом положении при вывешивании за хвост АНОП. Данный подход моделирует один из эффектов невесомости, обнаруженный у человека в космическом полете. Моделирование этого эффекта сопровождается у крыс морфологическими изменениями сосудов мозга, сосудистого сплетения и эндимиоцитов [3,6], указывающими на затруднение оттока крови от головного мозга и замедление оттока цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) из желудочков. Повторное пребывание крыс в АНОП - несмотря на повторное перераспределение жидких сред - минимализирует изменения, возникающие в сосудистой системе мозга и в сосудистом сплетении желудочков [4,5].

Материалы и методы

Целью исследования являлось изучение механизмов адаптации организмов к длительному повторному антиортостатическому положению (АНОП), моделирующему некоторые эффекты невесомости, возникающие у человека в космическом полете.

В настоящей работе с помощью сканирующей электронной микроскопии исследовали эндимио третьего желудочка мозга крыс, первично и повторно находившихся в условиях АНОП. В эксперименте использовали крыс самцов линии Вистар с исходной средней массой тела 172 ± 1 г, разделенных на 7 групп по 7 животных в каждой. Крысы 1-й группы являлись контролем ко 2-й группе; крысы 2-й группы были вывешены в АНОП в течение 30 суток; животные 3-й группы - контроль к 4-й группе; в 4-й группе крысы были вывешены в АНОП 30 суток и реадаптированы затем к горизонтальному положению в течение 30 суток; крысы 5-й группы - контроль к животным 6-й и 7-й групп; крысы 6-й группы были впервые вывешены в АНОП на 14 суток, а крысы 7-й группы находились в АНОП 14 суток, затем реадаптированы в течение 30 суток к горизонтальному положению и повторно были вывешены в АНОП в течение 14 суток. Для вывешивания крыс в АНОП при угле между телом и полом клетки (~ 30) использовали устройство, предложенное Е.Р.Могеев [7] и модифицированное Е.А.Ильиным и В.Е.Новиковым [2].

Животных забивали декапитацией с помощью гильотины. Для сканирующей электронной микроскопии образцы ткани мозга, содержащие слой эндиминальных клеток,

вместе с подлежащей тканью вырезали из стенки третьего желудочка вблизи сосудистого сплетения, фиксировали в 2,5 % глутаральдегиде в 0,1M какодилатном буфере рН 7,3 при 4 0С, дофиксировали в 1 % Os O4, обезвоживали в этаноле возрастающих концентраций и в ацетоне, высушивали методом критической точки в углекислоте, монтировали с помощью серебряной краски на алюминиевые блоки, покрывали золотом в спуттере и исследовали в сканирующем электронном микроскопе JSM - 840А при увеличении $\times 1000 - 5000$.

Результаты и обсуждение

У крыс виварийного контроля на поверхности стенки третьего желудочка мозга видны реснички и микроворсинки эпендимальных клеток, причем реснички собраны в пучки и имеют четкую ориентацию в одном направлении (рис 3).

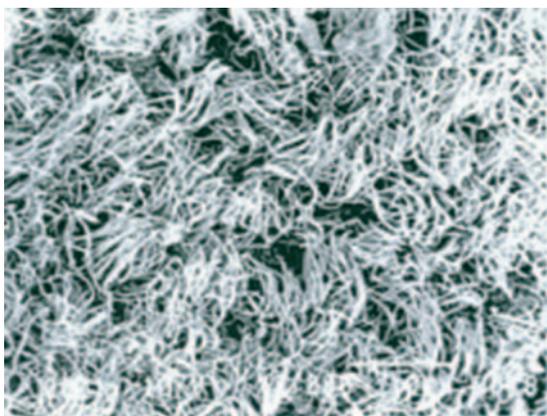


Рис 3. . Реснички эпидимальных клеток третьего желудочка мозга крысы виварийного контроля. Бар – 10 μm

Реснички необычайно плотно расположены и густо покрывают поверхность эпендимы таким образом, что сквозь них трудно различима поверхность эпендимальных клеток и расположенные на ней микроворсинки. Строение поверхности эпендимы совпадает с описанием строения аналогичной структуры у крыс, исследовавшейся с помощью сканирующей электронной микроскопии ранее [8,9]. Ультраструктура поверхности эпендимы у крыс виварийного контроля 1-й, 3-й и 5-й групп была одинакова.

У крыс, находившихся 30 сут. в условиях АНОП, поверхность эпендимы характеризовалась резким снижением общего количества ресничек или полным их отсутствием в ряде мест, а также потерей ориентации ресничек (рис. 4).

Пучки ресничек содержат меньшее их количество, реснички расположены хаотично и часто соединены между собой. На

поверхности эпендимальных клеток, не покрытых ресничками, также видно резкое уменьшение числа микроворсинок или отмечается их отсутствие.

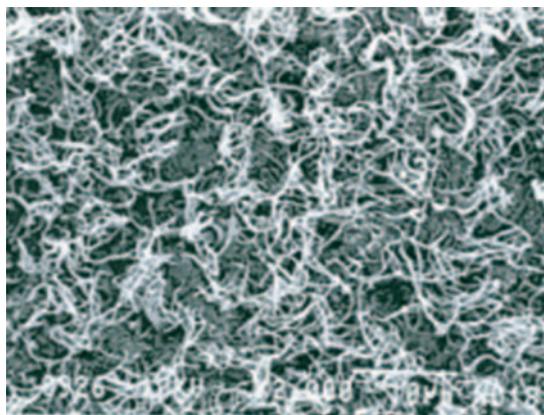


Рис 4. Реснички эпидимальных клеток третьего желудочка мозга крысы, находившейся 30 суток в условиях АНОП. Снижение численности и хаотичная ориентация. Бар – 10 μm

Пребывание крыс в течение 30 суток в горизонтальном положении после 30-суточного АНОП вызвало почти полное восстановление поверхностных структур эпендимы (рис.5).

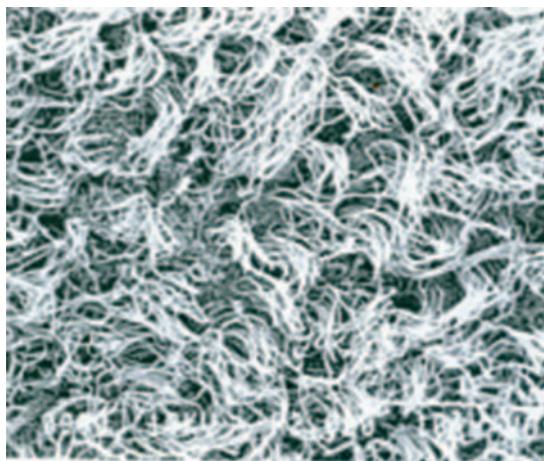


Рис 5. Реснички эпидимальных клеток третьего желудочка мозга крысы, реадaptированной 30 суток к горизонтальному положению после 30-суточного АНОП. Почти полное восстановление численности и ориентации. Бар – 10 μm

Возросла численность ресничек в пучках. Реснички приобрели более прямой вид и более четкую ориентацию. Уменьшилась площадь эпендимы не покрытая ресничками и увеличилась численность микроворсинок на поверхности эпендимальных клеток. В целом, строение поверхностных структур эпендимальных клеток приблизилось к та-

ковому у крыс виварийного контроля, однако полного восстановления ультраструктуры не наступало. Повторное 14-суточное воздействие АНОП на крыс после их 30-суточной реабилитации к горизонтальному положению вызвало уменьшение численности ресничек на поверхности эпендимы по сравнению с предшествующим воздействием реадaptации (рис.6). Уменьшилось количество ресничек в пучках и стала более неопределенной их ориентация. Однако, эти изменения ультраструктуры были значительно менее выражены по сравнению с изменениями как после 30-суточного АНОП, так и после первичного 14-суточного АНОП (рис.7). В свою очередь, изменения ультраструктуры поверхности эпендимы после первичного 14-суточного АНОП по своей выраженности занимали промежуточное положение между ультраструктурой эпендимы крыс виварийного контроля и ее изменениями после первичного 30-суточного АНОП, что свидетельствует о нарастании деструктивных изменений ультраструктуры по мере увеличения продолжительности АНОП.

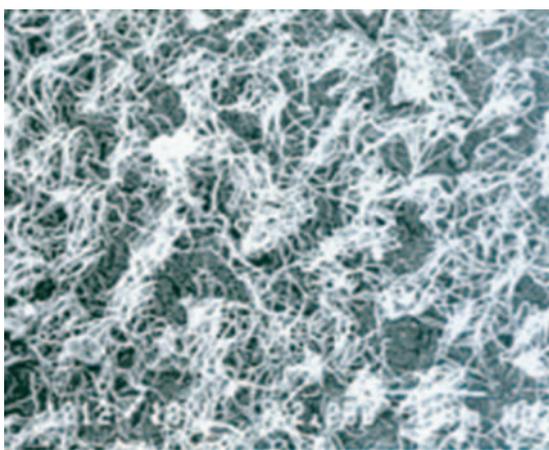


Рис. 6. Реснички и микроворсинки эпидимальных клеток 3-го желудочка мозга крысы, впервые находившейся в 14-суточном АНОП. Бар – 10 μ m

Известно, что движение ресничек осуществляет перемещение ЦСЖ в пространстве желудочков и в направлении к Пахитоновым грануляциям сагитального венозного синуса, через которые осуществляется отток ЦСЖ в венозную систему. Полученные данные о резком уменьшении численности ресничек эпидимальных клеток у крыс, находившихся в 30-суточном АНОП, свидетельствует о нарушении ликвородинамики в желудочках мозга. В то же время эти данные, а также выявленное уплотнение эпидимальных клеток и отек слоя в сочетании с уплотнением эпителия ворсин

сосудистого сплетения, обнаруженном при гистологическом исследовании мозга тех же крыс ранее [4,5], свидетельствуют о повышении внутрижелудочкового давления, являющегося, очевидно, результатом нарушения оттока ЦСЖ при перераспределении жидких сред организма в краниальном направлении.

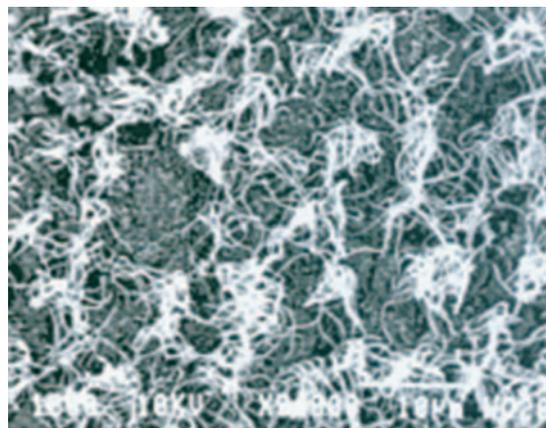


Рис. 7. Реснички и микроворсинки эпидимальных клеток 3-го желудочка мозга крысы, повторно находившейся в 14-сутки в АНОП. Большая численность ресничек по сравнению с их количеством после первичного 14-суточного АНОП. Бар – 10 μ m

Процесс восстановления ультраструктуры ресничек и строения эпидимальных клеток в период реадaptации крыс к горизонтальному положению указывает, по видимому, на восстановление оттока ЦСЖ из желудочков. Значительно менее выраженные деструктивные изменения эпидимальных клеток при повторном 14-суточном АНОП (по сравнению с первичным 14-суточным) свидетельствует о том, что при повторном АНОП, несмотря на повторное перераспределение крови в краниальном направлении, повышение давления в желудочках мозга стало меньшим, чем при первичном АНОП, возможно, в результате повышения эффективности механизма оттока ЦСЖ через Пахитоновы грануляции. Результаты проведенного исследования в целом совпадают с обнаруженной ранее минимализацией изменений в сосудах мозга крыс при отставленном на длительное время повторном моделировании эффектов невесомости [4,5].

На рисунке 8 видно, что полученные фактальные характеристики оптимально отражают полученные морфологические структуры длительного антиортостатического эксперимента.

Работа выполнена при поддержке Фонда фундаментальных исследований ГНЦ РФ ИМБП.

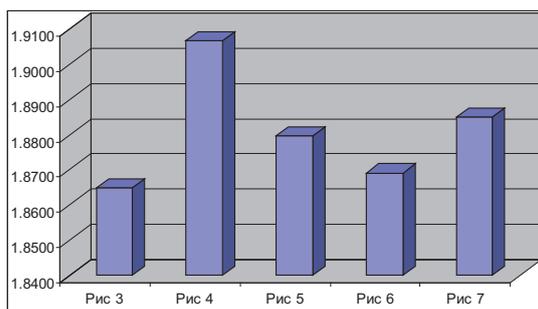


Рис 8. Фрактальные характеристики полученных морфологических структур

Список литературы

1. Морозов А.Д. Введение в теорию фракталов / А.Д. Морозов. – М.- Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2002. – 160 с.
2. Ильин Е.А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами (Косм. биол. 1980, т.14, №3, с. 79- 80.

3. Краснов И.Б., Гулевская Т.С., Моргунов В.А. Морфология сосудов и сосудистого сплетения мозга крыс после 93 -суточного моделирования эффектов невесомости. (Авиакосм. и эколог. мед. 2005, т. 39, № 1, с. 32 - 36.

4. Краснов И.Б., Гулевская Т.С., Моргунов В.А., Логинов В.И., Чельная Н.А. Состояние сосудов мозга крыс после повторного моделирования эффектов невесомости (гистологическое исследование. (Авиакосм. и эколог. мед., 2005, т. 39., №2, с. 34-37.

5. Gulevskaya T.S., Morgunov V.A., Krasnov I.B., Loginov V.I., Chelnaya N.A., Brain vessels in the rats exposed to primary and repeated tail-suspension. Minimization of structural change after repeated exposure. (J. Gravit. Physiol. 2004, V.11, № 2, p. 103-104.

6. Krasnov I.B., Gulevskaya T.S., Morgunov V.A. Histological study of brain in the rats exposed to 93-day tail-suspension (I. Gravit. Physiol., 2002, V. 9., № 1, 35-36.

7. Morey E.R. Space flight and bone turnover: correlation with a new rat model of weight-lessness (Bioscience., 1979, V.29., № 1, p. 168-172 .

8. Paull W.K., Martin H. and Scott D.E. Scanning electron microscopy of the third ventricular floor of the rat. (J. Comp. Neurol., 1977, V.175. p.301-310.

9. Scott D.E., Kozlowski G.D., Sheridan M.N. Scanning electron microscopy in the ultrastructural analysis of the mammalian cerebral ventricular system. (Int.Rev. Cytol., 1974, V. 37. p.349-388.

УДК 57.045

АНАЛИЗ СВЯЗИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА С ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКОЙ НА ПРИМЕРЕ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Пастушкова Е.В.

*ФГБОУ ВПО Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург,
e-mail: pas-ekaterina@yandex.ru*

Изучены причины возникновения оксидативного стресса у населения, проживающего в районах с неблагоприятных экологической обстановкой, на примере Свердловской области. Представлен анализ экологического состояния в России, в том числе по Свердловской области: динамика суммарных выбросов загрязняющих веществ в атмосферу от стационарных и передвижных источников, распределение валового выброса загрязняющих веществ в атмосферу от стационарных источников по федеральным округам в период. Экологическая ситуация в России свидетельствует о том, что наибольшее негативное влияние на состояние окружающей среды оказывают предприятия химического комплекса: применяемые в отрасли несовершенные производства являются источниками загрязнения атмосферного воздуха многими специфическими веществами в концентрациях, значительно превышающих допустимые – 6% от общих выбросов по РФ; загрязнение сточных и подземных вод химическими предприятиями – доля очистки около 30 %. На территории таких городов влияют как неспецифические загрязнители (пыль, сернистый ангидрид сероводород, оксид углерода, диоксид азота), так и специфические (фтор, фенол, металлы и др.). Рассмотрены факторы влияния атмосферных загрязнений на здоровье населения.

Ключевые слова: оксидативный стресс, экологическая обстановка, загрязняющие вещества, техногенные факторы

ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF THE OCCURRENCE OF OXIDATIVE STRESS ECOLOGICAL CONDITIONS ON THE EXAMPLE OF SVERDLOVSK REGION

Pastushkova E. V.

Ural State University of Economics, Ekaterinburg, E-mail: pas-ekaterina@yandex.ru

Studied the causes of oxidative stress in populations living in areas with unfavorable ecological conditions on the example of Sverdlovsk region. Presents an analysis of the environmental situation in Russia, including Sverdlovsk region: dynamics of total emissions of polluting substances in atmosphere from stationary and mobile sources, the distribution of gross emissions of polluting substances into atmosphere from stationary sources in the Federal districts in the period. The ecological situation in Russia suggests that the greatest negative impact on the environment provide enterprises chemical industry: used in the industry is imperfect production are sources of air pollution in many specific substances in concentrations that significantly exceed the permissible 6 per cent of the total emissions of the Russian Federation; contamination of sewage and groundwater chemical industries – share of cleaning around 30 %. In the territory of such cities is influenced both by non-specific pollutants (dust, sulphur dioxide, hydrogen sulphide, carbon monoxide, nitrogen dioxide) and specific (fluoride, phenol, metals, etc.). Considered factors of influence of atmospheric pollution on the health of the population.

Key words: oxidative stress, environmental situation, pollutants, anthropogenic factors

Известно, что с появлением жизни на планете организмы стали приспосабливаться к окружающей среде, и естественно испытывать стресс, который невозможно избежать. Стоит отметить, что на сегодняшний момент на этапе развития технологий человек находится в практически непрекращающемся стрессе. Анализ литературных источников свидетельствует, что к основным стрессорам для организма человека можно отнести неблагоприятные условия среды (в том числе и окружающей) или внутреннее состояние человека с точки зрения психологии.

В современном мире достаточно сложно организму противостоять стрессогенной ситуации, такая ситуация требует мобилизации всех имеющихся ресурсов человека.

Чаще возникающие стрессовые ситуации не позволяют организму полноценно мобилизовать свои внутренние ресурсы (физиологические механизмы организма, внутренняя энергия). Следствием такого стресса является разрушение самого организма.

При благоприятных условиях стресса организм человек может трансформироваться в оптимальное состояние, при неблагоприятных – в состояние нервно-эмоциональной напряженности, для которого характерно снижение работоспособности и эффективности функционирования систем и органов, истощение энергетических ресурсов. Сегодня доказано, что само по себе состояние стресса – не болезнь. Хотя российский психофизиолог Ю. И. Александров

отмечает, что стресс стал одним из самых модных медико-психологических диагнозов. [000]

Современные исследования ученых: Трошина В.Д., Погожевой А.В., Черешнева В.А., Гусева Е.Ю., Журавлевой Ю.А., Соломатиной Л.В., Зубовой Т.Э. Очирова О.И., Жигаева Г.Ф., Кривигиной Е.В., Лудуповой Е.Ю. и др. подтверждают, что в последнее время актуальность приобрела теория оксидантного стресса, сущностью которой является увеличение продолжительности жизни за счет потребления продуктов с низким содержанием сахара и жира, и увеличением доли потребления продуктов повышающим антиоксидантный потенциал организма.

Впервые теорию оксидантного стресса предложил Д.Харман в 1956 г.

Окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе старения. Известный во всем мире биохимик Б. Эймс считает, что старение связано в первую очередь с окислительной деструкцией митохондрий, следствием которой является снижение выработки ими аденозинтрифосфата (АТФ). Для замедления процессов старения им предложено регулярное потребление ацетил-L-карнитина (вещества, стимулирующего выработку АТФ) и природного антиоксиданта – липоевой кислоты [3, 6, 8, 15].

В нашей стране на возможный механизм участия свободных радикалов в процессе старения впервые обратил внимание Н. М. Эммануэль [3, 10].

Согласно теориям оксидантного стресса и хронического воспаления причиной возрастных изменений и повреждений мембран, макромолекул и генетического аппарата клеток являются свободные радикалы, возникающие под действием кислорода, фоновой радиации, чужеродных химических веществ и других факторов окружающей среды. В связи с этой теорией велись поиски геропротекторов среди антиоксидантов; так как основным источником антиоксидантов является пища человека, то эта теория имеет наибольшее отношение к питанию.

В течение всей жизни мы подвергаемся воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды (например, ионизирующего и ультрафиолетового облучения). Наряду с этим отрицательное влияние оказывают стрессы, курение, прием алкоголя, нерегулярное, нерациональное, а иногда и недоброкачественное питание. Все это приводит к активации процессов свободно-радикального окисления с избыточным образованием активных форм кислорода (супероксид-аниона, пероксида водорода, гидроксильного радикала, пергидроксильного радикала и др.). [13]

Стойкое увеличение в клетках свободных радикалов создает условия для оксидантного стресса, когда свободные радикалы окисляют стенки сосудов, молекулы белков, ДНК, липидов. Свободные радикалы особенно тесно взаимодействуют с липидами клеточных мембран, содержащими ненасыщенные связи, в результате чего изменяют свойства мембран. Липопротеиды низкой плотности после их окисления могут откладываться в сосудистой стенке, что приводит к развитию атеросклероза и как следствие – к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Взаимодействие свободных радикалов с белками нарушает третичную структуру последних, изменяет аминокислотные остатки, приводит к агрегации и белковой денатурации, вызывает мутации в ДНК. Разрыв связей в молекулах ДНК приводит к повреждению генетического аппарата клеток, регулирующего их рост, что приводит к развитию онкологических заболеваний.

Активация процессов перекисного окисления липидов в первую очередь приводит к повреждению клеточных мембран, оказывает мутагенное и цитотоксическое действие. Эффекты активных форм кислорода приводят к нарушению нормального функционирования клеток и организма в целом, могут вызвать развитие серьезных заболеваний (воспалительных, заболеваний, связанных со старением, и др.) в условиях так называемого оксидативного стресса.

Образующиеся в процессе окислительного стресса формы кислорода с высокой химической активностью способны ускорять процессы старения, т. е. способствовать преждевременному старению и развитию многих заболеваний (более ста). Считают, что многие дегенеративные заболевания, связанные со старением, включая сердечно-сосудистые, онкологические, катаракту, ослабление иммунной системы и дегенеративные заболевания нервной системы, развиваются в результате окислительного стресса.

Наиболее вероятными причинами этих процессов могут быть: различные неблагоприятные факторы окружающей среды (радиоактивный фон, электромагнитные поля, ультрафиолетовое облучение, высокие температуры); попадание в организм прооксидантов, загрязняющих атмосферу, из воздуха, воды, пищи; снижение поступления с пищей природных антиоксидантов за счет сезонного (в зимне-весенний период) уменьшения потребления свежих овощей и фруктов; избыточное потребление в составе пищи высококалорийных продуктов – источников жиров и углеводов – при низких энергозатратах.

Вышеперечисленные факторы выступают в роли прооксидантов, которые способны инициировать образование активных форм кислорода, повреждающих на клеточном уровне все органы и ткани нашего организма. [8, 13, 17]

Характеристика экологической и техногенной нагрузки

В современном мире на сегодняшний момент экологическая обстановка в силу растущего населения, совершенствования технологии производств, увеличения промышленности, вырубки лесов и осушения водных ресурсов, разрушения поверхностных слое почвы, по мнению ученых приводит к загрязнению окружающей среды, а, следовательно, к ухудшению экологической обстановки.

По результатам исследований Йельского и Колумбийского университетов, проведенных в период 2000-2012 г., в отношении экологической обстановки в мире, было выявлено что развитие экологической ситуации в течение последних 10 лет последнее место занимает Российская Федерация.

На основании рисунка 1 можно сказать, что среди стран мира по проблемам загрязнения окружающей среды, Россия занимает лидирующее место. Самыми благополучными с точки зрения экологической обстановки являются: Латвия, Норвегия, Люксембург, Коста-Рика, Франция, Австрия, Италия, Великобритания и Северная Ирландия, Швеция.

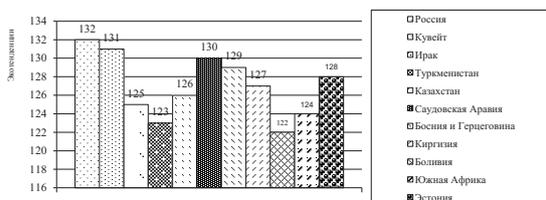


Рис. 1. Страны мира по загрязненности в зависимости от экотенденций [19,21]

По мнению западных экспертов Россия стала лидером рейтинга неблагоприятных экологических стран из-за критически низких показателей в области охраны окружающей среды. Стоит отметить, что Россия в период с 2005-2015 г снизила объем выброса диоксида серы.

К основным мировым экологическим проблемам можно отнести: загрязнение природной среды промышленного и сельского производства; потепление климата и вызванное этим повышение уровня Мирового океана; кислотных осадков; озоновые дыры; запустевания больших территорий; скоростей темпы снижения биологического

разнообразия, вырубка лесов и потеря целых экосистем.

Территория Российской Федерации (далее РФ) занимает более 17 млн.кв.км. Известно, что РФ отличается не только неоднородным климатом, но и ландшафтом и различными природными зонами. РФ богата природными ресурсами и занимает первое место в мире по разведанным запасам природного газа, железной руды, угля, асбеста, цинка и других полезных ископаемых. [1,5,14]

Известно, что экологическое состояние РФ находится в бедственном состоянии. Данный факт связан с сосредоточенностью объектов тяжелой промышленности, нефтегазовой и горнорудной отраслей, черной и цветной металлургии. А, следовательно, приводит к высоким среднегодовым уровням загрязнения атмосферного воздуха, превышающие санитарно-гигиенические нормы. Стоит отметить, что неблагоприятные факторы сказываются на численности населения РФ. (Рисунок 2) Показано, что общая численность по сравнению с 2005 г. в 2015 увеличилась на 2466,3 млн. человек. Тогда как численность сельского населения снизилась на 633,8 млн, чел, что свидетельствует о перераспределении населения в городе РФ.

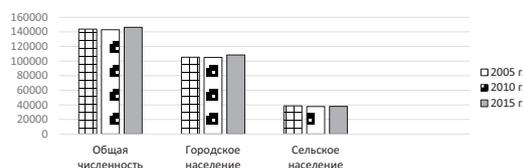


Рис. 2. Численность населения РФ в период 2005, 2010, 2015 гг, млн. человек [19]

При анализе экологической обстановки РФ, стоит отметить, что наибольшее негативное воздействие на атмосферный воздух оказывают: промышленность, автомобильный транспорт, а также, большинство водных объектов РФ не отвечающих нормативным требованиям. Одной из основных проблем является обезвреживание и переработка бытовых и промышленных отходов, представляющих реальную угрозу здоровью населения и экосистем [5,9,16].

Динамика валовых выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух от стационарных источников и автотранспорта в Российской Федерации за период 2010-2015 гг. отражена на рисунке 3. В соответствии с ФЗ- 7 от 10.01.2002 г. (ред. От 03.07.2016 г.) «Об окружающей среды» стационарным источником загрязнения окружающей среды является источник, местоположение которого определено с применением единой

государственной системы координат или который может быть перемещен посредством передвижного источника загрязнения окружающей среды (транспортное средство, двигатель которого при его работе является источником загрязнения).



Рис. 3. Динамика суммарных выбросов загрязняющих веществ в атмосферу от стационарных и передвижных источников в РФ 2010-2015 г.г. [9,16]

Наблюдается тенденция снижения суммарных выбросов загрязняющих веществ в атмосферу по РФ в целом не более чем на 1% к 2010 году. При анализе показателей загрязнения в зависимости от источника, можно отметить снижение за последние 5 лет показателя загрязнения стационарными источниками на 10% (-1866 млн. т) и увеличение передвижными источниками на 5% (+736 млн. т). Данный факт связан с тем, что в крупных городах РФ выбросы загрязняющих веществ в атмосферу от автотранспорта преобладают над выбросами от промышленных предприятий.

Для решения снижения загрязненности экосистем на территории РФ ведется работа по разработке мероприятий, снижающих неблагоприятную экологическую обстановку. Основные направления основываются на: федеральных законах от 28.12. 2010 г. N 390-ФЗ «О безопасности» и 28 июня 2014 г. N 172-ФЗ «О стратегическом планировании в Российской Федерации», «Стратегия экологической безопасности Российской Федерации до 2020 года» утверждена 31.12.2015 г., «Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации» утвержденная распоряжением правительства РФ № 1364-р от 29.06.2016 г., в том числе на региональном уровне «Стратегия социально-экономического развития Уральского федерального округа на период до 2020 года», утверждена распоряжением правительством РФ от 23.04.2012 N 619-р (ред. от 11.02.2015).

По результатам прошлых лет по России выбросы от стационарных источников составили 19,1 млн. т (на 1,6% больше, чем в 2005 г.) и приблизились к показателям 2003 г. Объем выбросов твердых веществ сохранился на уровне 2005 г. (2,97 млн. т), выбросы оксида углерода увеличились на 3% (5,15

млн. т), углеводородов – на 1,4% (2,72 млн. т), летучих органических соединений – на 33% (1,13 млн. т), выбросы диоксида серы составили 5,25 млн. т, или 97,2% к уровню 2005 г., оксидов азота – 1,68 млн. т (98,9%) [16,18,20].

Валовые выбросы загрязняющих веществ в воздушный бассейн от стационарных источников распределяются по федеральным округам следующим образом: Сибирский – 30%, Уральский – 25%, Приволжский – 15%, Северо-Западный – 12%, Центральный – 8%, Южный и Дальневосточный – по 5%. Данные представлены на рисунке 4 [18].

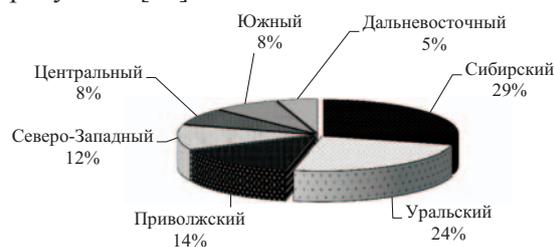


Рис. 4. Распределение валового выброса загрязняющих веществ в атмосферу от стационарных источников по федеральным округам в период 2010 – 2015 г.г [7]

В 2010 г. до 50% объема выбросов загрязняющих веществ в атмосферу приходилось на 11 субъектов Федерации, в 2013 г. – на 9, в 2015 г. – на 8. Красноярский край в течение этих лет занимает лидирующее положение (из-за выбросов ОАО «Норильская горная компания», г. Норильск). Свердловская область, имея постоянную долю в валовых выбросах, равную 7%, уступила в 2015 г. второе место Ханты-Мансийскому автономному округу (9%). В пятерку крупнейших по объему выбросов субъектов Федерации входят также Челябинская и Кемеровская области. По данным государственного водного кадастра, в 2015 г. использовано на хозяйственно-питьевые и производственные нужды, на нужды орошения и сельскохозяйственного водоснабжения, на прочие нужды 66,8 км воды (99,8% к уровню 2010 г.). Без изменения остается показатель экономии воды за счет эксплуатации систем оборотного водоснабжения (77,0%). В поверхностные водные объекты страны в 2011 г. поступило 54,7 км сточных вод (98,4% к уровню 2010 г.), из которых 36,2% – загрязненные сточные воды, 4,6% – нормативно очищенные, 59,2% – нормативно чистые. Суммарный объем сброса загрязненных сточных вод в поверхностные водные объекты России в 2011 г. снизился и составил 19,8 км (97,5% к уровню 2010 г.). [2]

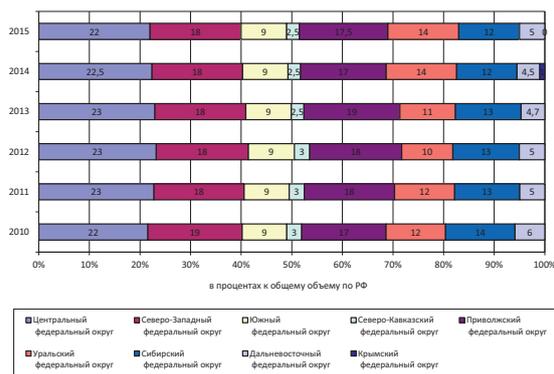


Рис. 5. Динамика загрязненных сточных вод по федеральным округам к общему объему по РФ за 2010-2015 г.г., % [12,13]

Распределение объема загрязненных сточных вод по федеральным округам выглядит следующим образом: Центральный – 22%, Северо-Западный и Приволжский – по 17% и 19%, Сибирский – 14%, Южный – 9%, Уральский – 12%, Дальневосточный – 5%. В 2015 г. до 50% объема загрязненных сточных вод сбрасывались на территориях 8 субъектов Российской Федерации, в 2010 г. и 2015 г. – на 11. Лидирующее место занимает г. Москва (10 – 13%), на второе место в 2010 г. вышел г. Санкт-Петербург, отодвинув на третьем месте Краснодарский край. Постоянно на четвертом месте среди субъектов Федерации – Иркутская область.

Распределение объема токсичных отходов, образовавшихся в Российской Федерации в 2010 г., по федеральным округам имеет следующий вид: Сибирский – 32%, Приволжский – 16%, Северо-Западный и Уральский – по 15%, Центральный – 12%, Южный – 7%, Дальневосточный – 3%. Согласно данным Федеральной службы государственной статистики России по 13,4 тыс. предприятий, в Российской Федерации в 2001г. образовалось 139 млн.тн. токсичных отходов производства и потребления (на 9% больше, чем в 2010г.), из которых 93% - отходы 4 класса опасности, 5,3% - отходы 3 класса опасности, 1,4% - 2 класса, 0,3% - отходы 1 класса опасности. Использовано и полностью обезврежено 36,5% токсичных отходов, образовавшихся за год.

Экологическая ситуация в РФ свидетельствует о том, что кризисные тенденции, с полной отчетливостью проявившиеся в предшествующие 15 лет, не преодолены, а в отдельных аспектах даже углубляются, несмотря на принимаемые меры. Из-за нестабильной работы большинства предприятий, их тяжелого финансового положения, недостаточности бюджетного финансирования выполнение природоохранных мероприятий осуществляется в совершенно

недостаточных объемах. Высокая степень износа технологического оборудования на предприятиях химической, нефтехимической, микробиологической промышленности чревата техногенными авариями с последующим химическим заражением территории.

Анализ экологической ситуации в России свидетельствует о том, что наибольшее негативное влияние на состояние окружающей среды оказывают предприятия химического комплекса: применяемые в отрасли несовершенные производства являются источниками загрязнения атмосферного воздуха многими специфическими веществами в концентрациях, значительно превышающих допустимые – 6% от общих выбросов по РФ; загрязнение сточных и подземных вод химическими предприятиями – доля очистки около 30 %.

В 2016 году Федеральная служба государственной статистики опубликовала бюллетень “Основные показатели охраны окружающей среды”, где, были представлены данные за 2015 год по 181 городу России наибольший объем по выбросам веществ, загрязняющих атмосферу, приходится на стационарные источники и автомобильный транспорт. Город Екатеринбург занимает 14 место- 203,5 тыс. тонн (83,9 % - автомобили). Стоит отметить, что распределение мест в рейтинге по общему объему выбросов не всегда отражает реальную разницу в экологической загрязненности городов. Так Федеральной службой по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды по данным сети мониторинга качества воздуха в 2012 году было выделено 23 города, включенных в перечень промышленных центров с особо высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха: Ачинск, Братск, Дзержинск, Екатеринбург, Иваново, Иркутск, Кемерово, Красноярск, Курган, Лесосибирск, Магнитогорск, Москва, Нерюнгри, Нижний Тагил, Новороссийск, Новочеркасск, Норильск, Салехард, Стерлитамак, Челябинск, Черногорск, Чита, Южно-Сахалинск.

Состояние здоровья человека, вызванные техногенными факторами

Как уже было отмечено выше, основными факторами техногенного характера, оказывающими негативное влияние на здоровье, является химическое и физическое загрязнение окружающей среды.[3-6]

Глобальное загрязнение атмосферного воздуха сопровождается ухудшением состояния здоровья населения. Вместе с тем проблема количественной оценки влияния этих загрязнений еще окончательно не решена. В большей части негативное влияние

опосредуется через трофические цепи, так как основная масса загрязнений выпадает на поверхность земли (твердые вещества) либо вымывается из атмосферы с помощью осадков. За исключением аварийных ситуаций, изменения в состоянии здоровья бывает достаточно трудно увязать с конкретным ксенобиотиком, попавшим в атмосферный воздух. На количество людей подверженных отравлению играет роль не только этиологический фактор, но и существенное влияние оказывают метеорологические условия, которые способствуют или препятствуют рассеиванию вредных веществ в воздухе [9-15].

По данным выборочного обследования 33 городов России (фрагмент базы данных информационной системы АГИС «Здоровье»), в городах с повышенным уровнем загрязнения среднее число заболеваний органов дыхания увеличивается на 41%, сердечно-сосудистой системы - на 132%, болезней кожи на 176% и число злокачественных новообразований - на 35%. Многочисленные исследования, проведенные в последние годы, свидетельствуют о том, что у детей, проживающих в районах с высоким уровнем загрязнения атмосферного воздуха, отмечается низкий уровень физического развития, которое часто оценивается как дисгармоничное. Наблюдающееся отставание уровня биологического развития от фактического возраста свидетельствует о весьма неблагоприятном влиянии загрязнения воздушной среды на здоровье подрастающего поколения [25].

В наибольшей степени загрязнение атмосферного воздуха сказывается на показателях здоровья в урбанизированных центрах, в частности в городах с развитой металлургической, перерабатывающей и угольной промышленностью. На территории таких городов влияют как неспецифические загрязнители (пыль, сернистый ангидрид сероводород, оксид углерода, диоксид азота), так и специфические (фтор, фенол, металлы и др.). Причем в общем объеме загрязнений атмосферного воздуха неспецифические загрязнители составляют 95% [5, 25].

Схема влияния атмосферных загрязнений на организм человека приведена на рисунке 8. [12, 13]

В результате анализа результатов исследований В.Д. Суржикова было установлено, что в зависимости от возраста меняется порог воздействий атмосферных загрязнений на заболеваемость населения: наименее чувствительной является группа населения в возрасте 20 - 39 лет, а наиболее чувствительными - группа детей от 3 до 6 лет (в 2,3

раза) и возрастная группа взрослого населения старше 60 лет (в 1,6 раза) [24].



Рис. 8. Влияние атмосферных загрязнений на здоровье населения [7]

Регрессионный анализ показал, что действие атмосферных загрязнений вызывает заболевания с временной утратой трудоспособности у рабочих металлургического комбината в 17- 24% случаев, а у работников непромышленной сферы - в 28 - 39% случаев. Противоречия в приведенных цифрах нет, поскольку на структуру заболеваемости рабочих промышленных предприятий в наибольшей степени влияет состояние загрязнения воздуха рабочей зоны. [23]

Заключение

Опасность воздействия загрязненного атмосферного воздуха на здоровье населения загрязнение обусловлена объективным действием следующих факторов: [5, 24]

- разнообразие загрязнений. Считается, что на человека, проживающего в промышленном районе, потенциально может воздействовать несколько сотен тысяч химических веществ. Как правило, в конкретном районе реально присутствует ограниченное число химических веществ в относительно высоких концентрациях. Однако, комбинированное действие атмосферных загрязнителей может привести к усилению вызываемых ими токсических эффектов. [11]

- массивность воздействия, так как акт дыхания является непрерывным и человек за сутки вдыхает до 20 тыс. л воздуха. Даже незначительные концентрации химических веществ при таком объеме дыхания могут привести к токсически значимому поступлению вредных веществ в организм [1-9].

Список литературы:

1. Боголюбов С.А. Экологизация законодательства, государства и общественной жизни// Право и экология: Материалы VIII Международной школы практикума молодых ученых – юристов. М., 2014. С. 33-39
2. Большеротов А.Л. Система оценки экологической безопасности строительства. – М.: Издательство Ассоциации строительных вузов, 2010. 216 с.
3. Буруль Т. Н. Принципы выделения различных видов антропогенной нагрузки на территории Волгоградской

- агломерации. Труды Всероссийской научной конференции с международным участием. Казань, 2009. С. 32–36.
4. Вяткин А.В. Влияние окислительного стресса на здоровье населения Свердловской области / Вяткин А.В., Арисов А.В., Чугунова О.В. // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. - 2016. - № 4 (39). - С. 99-105.
5. Дерягина, С.Е. Экологический менеджмент на предприятии / С.Е. Дерягина, О.В. Астафьева, М.Н. Струкова. – Екатеринбург: Типография Уральский центр академического обслуживания, 2007. 115 с.
6. Заиканов В. Г., Минакова Т. Б. Геоэкологическая стабильность (методика и примеры). Труды Всероссийской научной конференции с международным участием. Казань, 2009. С. 94–98.
7. Королев А.А. Медицинская экология: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. / Королев А.А., Богданов М.В. // - М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 192 с.
8. Куракова Л.И. Зарубежный опыт проведения экологических экспертиз. / Куракова Л.И., Романова Э.П., Солнцев В.Н. // Экологическое проектирование и экспертиза. / Москва: Изд-во, 2016. - 416 с.
9. Маторин Д. Н., Казаков Л. К. Закономерности современной динамики природно-антропогенных геосистем и подходы к исследованиям. Труды Всероссийской научной конференции с международным участием. Казань, 2009. С. 117–121.
10. Онищенко, Г.Г. Итоги и перспективы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации // Здоровоохранение Российской Федерации. 2008. №1. С. 2-5.
11. Пастушкова Е.В. Некоторые аспекты фактора питания и здоровья человека / Пастушкова Е.В., Мысаков Д.С., Чугунова О.В. // Здоровье и образование в 21 веке. – 2016. - № 4. - С.67-72.
12. Погожева А.В. Ешь, пей, молодежь. Уникальные принципы геродиететики – здорового питания в пожилом возрасте/ Погожева А.В.// - Москва: Изд-во АСТ, 2015. - 416 с.
13. Рациональное питание. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ: методические рекомендации МР 2.3.1. 19150-04. – М.: Институт РАМН, 2004. – 34 с.
14. Постановление Правительства Свердловской области от 16.10.2013 № 1228-ПП «О Стратегии развития пищевой и перерабатывающей промышленности в Свердловской области на период до 2020 года» Официальная публикация в СМИ: «Областная газета», № 478-479, 22.10.2013, «Собрание законодательства Свердловской области», 27.11.2013, № 10-3 (2013), ст. 1940
15. Распоряжение Правительства РФ от 17.04. 2012 г. № 559-р О стратегии развития пищевой и перерабатывающей промышленности РФ на период до 2020 г.
16. Тутельян В.А. От концепции государственной политики в области здорового питания населения России к национальной программе здорового питания / В.А. Тутельян, А.В. Шабров, Е.И. Ткаченко // Клиническое питание. – 2004. – № 2. – С. 2-4.
17. Фомин В. В., Шавнин С. А. Экологическое зонирование состояния лесов в районах действия атмосферных промышленных загрязнений // Экология. 2001. № 2. С. 104–108.
18. Фомин В. В., Шавнин С. А. Влияние горного рельефа местности и агропромышленных загрязнений на биометрические характеристики сосновых древостоев // Экология. 2002. № 3. С. 170–174.
19. Фомин В. В. Климатогенная и антропогенная пространственно-временная динамика древесной растительности во второй половине XX века. Екатеринбург: ИЭРиЖ УрО РАН. 2009. 150 с.
20. Фомин В. В., Николаев А. А. Экологическая оценка территории в зоне действия медеплавильного производства // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4 (83). С. 18–20.
21. Шатнюк Л.Н. Пищевые микроингредиенты в создании продуктов здорового питания // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2005. – № 2. – С. 18-22.
22. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. – Т. 3. Пробиотики и функциональное питание. – М.: Изд-во «Грант», 2001. – 288 с.
23. Шкарина Е.И. О влиянии биологически активных веществ на антиоксидантную активность фитопрепаратов. – Т. 35 / Е.И. Шкарина, Т.В. Максимова, Е.Л. Лозовская и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2001. – № 6. – С. 40-47.
24. Шамсутдинов Э.Р. Экологизация законодательства-важнейшая часть экологической функции современного государства // Материалы Международной научно-практической конференции 9-10- апреля 2009 г. Ч.5 Уфа 2009. С. 210-215
25. Штырова В. К., Нестерова О. Е. Картографическая модель геоэкологической оценки территории // Известия Саратовского университета. 2009. Т. 9. Сер. Науки о Земле. Вып. 2. С. 23–27.

УДК 57.044:612.116.2

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФЕНИЛГИДРАЗИНОВОЙ АНЕМИИ

Пахрова О.А., Криштон В.В., Ленчер О.С.

ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иваново, e-mail: o.pahrova@mail.ru

Исследована резистентность эритроцитов в раннем постнатальном онтогенезе у крыс при острой гемолитической анемии. В младших возрастных группах повышение кислотной стойкости эритроцитов к соляной кислоте при острой гемолитической анемии, по сравнению с контрольными группами, происходит раньше, чем у взрослых животных. В старшем возрасте пик кислотного гемолиза приходится на более поздний срок - пятые сутки моделирования анемии. У большинства групп крысят происходит восстановление интактных значений к окончанию срока наблюдения, у взрослых животных даже к четырнадцатому дню эксперимента кислотная устойчивость эритроцитов остается повышенной.

Ключевые слова: гемолитическая анемия, эритроциты, постнатальный онтогенез

AGE FEATURES CHANGES RESISTANCE OF ERYTHROCYTES IN EXPERIMENTAL PHENYLHYDRAZINE ANEMIA

Pakhrova O.A., Chrishtop V.V., Lencher O.S.

FSBEI HE "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo, e-mail: o.pahrova@mail.ru

Carried out to resistance of red blood cells in early postnatal ontogenesis to rats with acute hemolytic anemia. In younger age groups the increase of the acid resistance of erythrocytes to hydrochloric acid in acute hemolytic anemia, compared with control groups, occurs earlier than in adult animals. At older ages, the peak of the acid hemolysis is necessary at a later date - the fifth day of anemia simulation. The majority of the group of rats is a restoration of an intact value to the end of the observation period, even in adult animals the fourteenth day of the experiment, the acid resistance of red blood cells is increased.

Keywords: hemolytic anemia, red blood cells, postnatal ontogenesis

На всех этапах развития онтогенез органов и систем организма, сопровождается существенными функциональными перестройками. В условиях качественно меняющихся факторов внешней среды на этапах эмбрионального, пренатального и постнатального развития, становление и развитие регуляторных механизмов становятся одним из основных компонентов перестройки адаптационных реакций организма. Такие динамично меняющиеся условия наиболее полно раскрывают механизмы и возрастные особенности функционирования эритрона как компонента системы крови [4]. Система крови развивающегося организма находится в неравновесном состоянии, запас ее мощности еще не вполне сформирован, а регулирование не установилось на стабильном уровне. Одной из ключевых характеристик эритроцита как универсального транспортера кислорода является резистентность к действию повреждающих факторов, множество из которых активируют механизмы перекисного окисления белков и липидов. Исследование кислотной резистентности эритроцитов позволяет оценить состояние мембран клеток. Высокая частота анемических состояний, разнообразие их форм и

тяжесть течения в раннем детском возрасте, делают необходимым изучение этих вопросов в эксперименте.

Целью исследования стало изучение особенностей резистентности эритроцитов к действию соляной кислоты в раннем постнатальном онтогенезе у крыс при острой гемолитической анемии.

Эксперимент выполнен на 60 половозрелых белых крысах-самках массой 220 грамм и 360 крысятах в возрасте от 1, 5, 15, 10, 21 и 30 суток, по 30 животных на каждую временную точку. Все действия проводились с соблюдением норм и правил проведения экспериментов с участием животных. Животные были разделены на контрольную (30 половозрелых животных и 180 крысят в возрасте от 1 до 30 дней) и экспериментальную группы (30 половозрелых животных и 180 крысят в возрасте от 1 до 30 дней). В экспериментальной группе острая гемолитическая анемия моделировалась подкожным введением раствора фенилгидразина (ФГ) в дозе 30 мг/кг массы животного.

У животных контрольных и экспериментальных групп в динамике развития анемии определялась способность эритроцитов противостоять действию 0.004 Н раствора

соляной кислоты [1]. В основе кислотного гемолиза лежит агрегация денатурированных мембранных белков при снижении pH до 4.0 [2]. Гемолиз регистрировали при помощи устройства, состоящего из термостатированной кюветы (в ней поддерживалась температура 24оС), ультратермостата, фотоэлектроколориметра и регистрирующего потенциометра. Суспензию эритроцитов и гемолизирующий раствор помещали в кювету в соотношении 1:1 (2 мл суспензии + 2 мл раствора), гемолитик вносили полуавтоматическим шприцем-дозатором. Запись кривой кислотного гемолиза производилась при скорости движения диаграммной ленты 1 см/мин. При расшифровке полученных кривых кинетики разрушения эритроцитов определяли следующие показатели: время начала гемолиза (T0); время 50%-ного гемолиза (T50); время окончания гемолиза (T100); длительность гемолиза (Tг); интегральный показатель эритрограммы (ИП):[6].

$$ИП = S \sum t_i \times t_i,$$

где $\sum t_i$ - доля эритроцитов со стойкостью t_i ; t_i - стойкость (время разрушения) группы эритроцитов (мин).

Полученные первичные данные обрабатывались при помощи комплекса статистических методик [5], включающего в себя: определение среднего, его ошибку, дисперсию. Для определения достоверности различия средних применяли непараметрический критерий Манна – Уитни, за уровень статистической достоверности принимали $p < 0,05$.

В результате эксперимента у взрослых крыс наблюдалось повышение кислотной резистентности эритроцитов на третий день после введения ФГ: T50 увеличивалось с 5.82 ± 0.2 мин в контроле до 6.65 ± 0.2 мин ($p < 0.01$), ИП - с 6.00 ± 0.19 до 6.8 ± 0.2 ($p < 0.01$). Далее стойкость красных клеток к действию соляной кислоты уменьшалась, но и к окончанию исследования (14-е сутки) оставалась выше, чем у контрольных животных ($p < 0.05$).

В раннем постнатальном онтогенезе были выявлены следующие особенности кислотной резистентности эритроцитов при острой гемолитической анемии (табл. 1).

У 1-дневных крысят отмечалось повышение кислотной стойкости эритроцитов по сравнению со средневозрастными значениями уже на первые сутки после вве-

Таблица 1

Динамика интегрального показателя кислотной резистентности эритроцитов после введения фенилгидразина у крысят разного возраста

Показатели	Группа	Срок наблюдения (сутки)				
		1	2	3	5	7
1-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	5.62 ± 0.32	6.96 ± 0.39	7.91 ± 0.96	6.70 ± 0.48	5.13 ± 0.46
	Опыт p	7.57 ± 0.28 <0.001	7.42 ± 0.18 >0.2	7.88 ± 0.67 >0.8	6.77 ± 0.29 >0.8	6.19 ± 0.24 >0.05
5-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	6.92 ± 0.43	6.01 ± 0.45	5.70 ± 0.36	6.96 ± 0.46	6.16 ± 0.18
	Опыт p	8.31 ± 0.41 <0.05	7.57 ± 0.16 <0.005	7.59 ± 0.43 <0.005	7.46 ± 0.62 >0.5	6.81 ± 0.16 <0.02
10-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	5.46 ± 0.34	6.91 ± 0.52	5.21 ± 0.06	5.84 ± 0.33	5.77 ± 0.46
	Опыт p	6.86 ± 0.14 <0.005	7.50 ± 0.45 >0.2	5.99 ± 0.27 <0.02	6.81 ± 0.33 >0.05	7.67 ± 0.49 <0.02
15-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	6.89 ± 0.26	5.27 ± 0.36	5.32 ± 0.16	5.91 ± 0.28	5.70 ± 0.19
	Опыт p	7.20 ± 0.39 >0.5	6.32 ± 0.28 <0.05	6.04 ± 0.21 <0.02	6.62 ± 0.40 >0.1	5.72 ± 0.28 >0.8
21-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	6.05 ± 0.24	6.68 ± 0.31	5.97 ± 0.29	5.52 ± 0.16	6.78 ± 0.20
	Опыт p	6.34 ± 0.61 >0.5	5.36 ± 0.40 <0.05	6.78 ± 0.18 <0.05	7.07 ± 0.37 <0.005	6.08 ± 0.43 >0.1
30-дневные крысята						
Интегральный показатель	Контроль	5.98 ± 0.40	5.71 ± 0.38	6.30 ± 1.15	4.36 ± 0.94	5.55 ± 0.40
	Опыт p	7.16 ± 0.21 <0.02	6.86 ± 0.13 <0.02	7.70 ± 0.64 >0.2	7.50 ± 0.46 <0.02	6.18 ± 0.44 >0.2

дения ФГ: Т50 составляло 7.08 ± 0.24 мин при 5.47 ± 0.31 мин в контроле ($p < 0.001$), а ИП кислотной стойкости - 7.57 ± 0.28 при 5.62 ± 0.32 в контроле ($p < 0.001$). На вторые сутки все показатели приближаются к уровню контрольных животных, лишь Т50 оставалось выше, чем в контроле ($p < 0.01$).

В 5-дневном возрасте кислотная резистентность эритроцитов также повышалась на первые сутки после воздействия: ИП был равен 8.31 ± 0.41 при 6.92 ± 0.43 ($p < 0.05$). Однако в отличие от предыдущей возрастной групп он оставался выше уровня контроля до третьего дня эксперимента ($p < 0.005$) и начинал снижаться только с пятых суток после введения препарата.

Изменение кислотной стойкости эритроцитов 10-дневных крысят при острой гемолитической анемии напоминает таковую у 1-дневных крысят.

Повышение устойчивости эритроцитов к гемолитическому действию кислоты у 15-дневных крысят характеризуется некоторой инертностью; так ИП достоверно повышался только на второй день эксперимента, оставаясь на этом уровне до третьих суток, а затем снижался.

Существенная особенность изменения кислотной стойкости эритроцитов после введения ФГ наблюдалась у 21-дневных крысят. В отличие от других возрастных групп в первые два дня показатели не только не повышались, а напротив снижались. На второй день Т50 укорачивалось до 5.11 ± 0.33 мин при 6.38 ± 0.37 мин в контроле ($p < 0.05$), а ИП был равен 5.36 ± 0.4 при 6.68 ± 0.31 в контроле ($p < 0.05$). Однако в дальнейшем кислотная стойкость повышалась, ИП к пятым суткам увеличивался до 7.07 ± 0.37 при 5.52 ± 0.16 в контроле ($p < 0.005$).

У 30-дневных крысят резистентность мембраны эритроцитов к действию соляной кислоты повышалась на первые сутки после воздействия ($p < 0.02$), при этом своих максимальных значений Т50 и ИП достигали к пятому дню: Т50 составляло 7.17 ± 0.39 мин при 4.15 ± 0.95 мин в контроле ($p < 0.02$), ИП - 7.50 ± 0.46 при 4.36 ± 0.94 в контроле ($p < 0.02$).

Как видно, в более младших возрастных группах (1-, 5-, 10- и 15-дневные крысят) повышение кислотной стойкости красных клеток крови при острой гемолитической анемии происходит раньше, чем у взрослых животных. В более старшем возрасте (21- и 30-дневные крысят) пик кислотного гемолиза приходится на более поздний срок - пятые сутки. В большинстве групп происходит восстановление нормальных значений к окончанию срока наблюдения (седьмой день), у взрослых животных даже

к четырнадцатому дню эксперимента кислотная устойчивость эритроцитов остается повышенной.

Вероятно, в результате напряженности эритропоэза в кроветворных органах крысят младших возрастных групп образуется резерв незрелых красных клеток, обладающих повышенной кислотной стойкостью, которые при дополнительном эритропоэз-стимулирующем воздействии быстро выходят в циркуляцию, обуславливая более раннюю реакцию со стороны эритрона [3, 8, 11].

Менее стойкое, нежели у взрослых крыс, повышение резистентности эритроцитов к действию соляной кислоты в условиях острой гемолитической анемии может быть следствием напряженного состояния эритропоэза и ограниченности его функциональных резервов в раннем возрасте.

При переходе 21-дневных крысят с молочного на дефинитивный тип питания наблюдается активация кроветворения при еще не сформированных механизмах его регуляции. Именно с этого возраста у данных животных преимущественный синтез эритропоэтина наблюдается в почке [9, 10]. При этом эритроциты, образующиеся в основном в красном костном мозге, по своим свойствам практически не отличаются от эритроцитов взрослых животных. Вероятно, данный эффект вызван интенсификацией эритродиереза, обусловленной необходимостью элиминации эритроцитов, образованных в предшествующие возрастные периоды и не способных адекватно обеспечивать кислородом растущий организм. Это позволяет предположить критическое значение этого возрастного периода в становлении функции эритрона [7]. Наблюдаемое снижение кислотной стойкости у крысят этого возраста подтверждает это предположение.

Список литературы

1. Гительзон И.И., Терсков И.А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. - Красноярск: Изд-во СО АН СССР, 1959. - 247 с.
2. Иванов И.Т., Беннов Л.Ц. Агрегация денатурированных мембранных белков - начальный этап кислотного гемолиза // Биофизика. - 1991. - Т.36, Вып.5. - С.839-843.
3. Калимуллина Л.Б., Ахмадеев А.В. Гематологические характеристики крыс линии WAG/RIJ в постнатальном онтогенезе // Успехи современного естествознания. - 2005. - № 10. С.58.
4. Криштоп В.В., Пахрова О.А. Варианты перестроек гемореологических показателей у больных ревматоидным артритом // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2014. - № 9. - С.63-69.
5. Криштоп В.В., Пахрова О.А. Применение кластерного и корреляционного анализа для оценки гемореологических показателей у больных эссенциальной артериальной гипертензией // Успехи современного естествознания. - 2014. № 9-2. - С.11-16.

-
6. Леонова В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека. - Новосибирск, -1987.- 242с.
7. Новожилов А. В., Катюхин Л. Н. Динамика гематологических показателей крови белых крыс в постнатальном онтогенезе // Журнал эволюционной биохимии и физиологии.- 2008.-Т.44, №6.-С.613-621.
8. Пахрова О.А., Криштоп В.В., Курчанинова М.Г., Румянцева Т.А. Лейкоцитарные показатели крови при адаптации к острой экспериментальной гипоксии головного мозга в зависимости от уровня стрессоустойчивости. Журнал «Современные проблемы науки и образования». - 2016. - № 6.
9. Румянцева Т.А., Криштоп В.В., Ленчер О.С. Качественная морфофункциональная характеристика щитовидной железы крыс при острой гипоксии головного мозга в ранние сроки. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. -2016. – С. 102-106
10. Caro J., Erslev A.J., Silver R., Miller O., Birgegard G. Erythropoietin production in response to anemia or hypoxia in the newborn rat // Blood.- 1982.- Vol.60.- № 4.- P.984-988.
11. Sanengen T., Holter P.H., Haga A. et al. Perturbation of erythropoiesis during the period of early anemia. A model for studying the regulation of erythropoiesis in the neonatal mammals // Mol. And Cell. Aspects Erythropoietin and Erythropoiesis: Proc. NATO Adv. Res. Workshop.- Bad Windsheim,- 1987.- P.187-204.

УДК 57.001

**НЕКОТОРЫЕ ФРАКТАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИГНАЛА ЭКГ
(ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ЗАДАЧАМ ОБРАБОТКИ СИГНАЛА ЭКГ ВО
ВРЕМЯ ВЫХОДА В ОТКРЫТЫЙ КОСМОС)****¹Поздняков С.В., ¹Носовский А.М., ¹Каминская Е.В., ²Плющай М.М.**¹*ФГБУН Государственный научный центр Российской Федерации Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, e-mail: nam@imbp.ru; pozdnyakov-sv@yandex.ru; evk@imbp.ru*²*ГБУЗ «Психиатрическая больница №5 Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва, e-mail: plushai.mm@mail.ru*

В работе приводятся результаты расчета некоторых показателей фрактальности электрокардиографического сигнала. С этой целью использовался пакет программ, позволяющий вычислить параметр Херста для временного ряда. Длительность отрезков записей ЭКГ подвергнутых обработке, выбиралась с учетом длительности отдельных операций, осуществляемых во время ВКД космонавтами в реальных космических полетах. Установлено, что во всех исследованных временных отрезках записи ЭКГ, амплитудная характеристика сигнала имеет ярко выраженный антиперсистентный характер. Это свидетельствует о нестабильности средней величины амплитудных характеристик ЭКГ для участков записи исследованной длительности. Высказывается мнение, что для описания амплитудных изменений ЭКГ, ввиду нестационарности процесса, более предпочтительным, по сравнению с приемами вариационной статистики, является использование метода сингулярного спектрального анализа, менее зависящего от характера распределения.

Ключевые слова: внекорабельная деятельность, электрокардиограмма, фрактальность, показатель херста, сингулярный спектральный анализ

**SOME FRACTAL CHARACTERISTICS SIGNAL ECG (IN RELATION TO THE
TASKS OF THE ECG SIGNAL PROCESSING DURING A SPACEWALK)****¹Pozdnyakov S.V., ¹Nosovsky A.M., ¹Kaminskaya E.V., ²Plushai M.M.**¹*FGBUN State scientific center of the Russian Federation Institute of medicobiological problems of RAS, Moscow, e-mail: nam@imbp.ru; pozdnyakov-sv@yandex.ru; evk@imbp.ru*²*GBUZ «Lunatic asylum No. 5 of Department of health care of the city of Moscow», Moscow, e-mail: plushai.mm@mail.ru*

The paper presents the results of the calculation of some indices of fractal dimensions of ECG signal. With this purpose we used a software package that allows you to calculate the Hurst exponent for a time series. The duration of the segments of the ECG records had been handled, were chosen taking into account the duration of individual operations carried out during the EVA astronauts in real space missions. Found that in all investigated time intervals of ECG, the amplitude of the signal has a distinct antipersistent character. This indicates instability of the average value of the amplitude characteristics of the ECG for the areas studied recording duration. It has been argued that to describe the amplitude changes of the ECG, due to the nonstationarity of the process, is more preferable in comparison with the methods of variation statistics is the use of the method of singular spectrum analysis is less dependent on the nature of the distribution.

Keyword: Extravehicular activity, electrocardiograms, fractal, Hurst exponent, Singular Spectrum Analysis

Целью исследования явилось изучение некоторых характеристик фрактальности электрокардиографического сигнала, как первого этапа работ по поиску новых методов, позволяющих получить большее количество достоверной информации о клинически значимых изменениях ЭКГ. Все более активное внедрение в клиническую практику принципов доказательной медицины требует поиска методов, безупречных с точки зрения их достоверности и точности. Снятие электрокардиограммы при выполнении работ в открытом космосе (внекорабельная деятельность - ВКД) является одним из наиболее надежных источников информации о состоянии здоровья космонавта. Однако, технические возможности

передачи сигнала на огромные расстояния, существующие в настоящее время, накладывают ограничение на количество получаемой информации. По этому, для экономии ресурсов, электрокардиографический сигнал снимается в одном отведении, а его дискретизация при передаче по телеметрическим каналам составляет 200 Гц, что является той минимальной частотой дискретизации, при которой еще возможно выявление клинически значимых изменений в форме этого сигнала. Кроме этого, снятие ЭКГ во время ВКД осуществляется на фоне выполнения космонавтом физических нагрузок различной интенсивности. При этом нагрузка распределяется неравномерно во времени, носит резко выраженный

интервальный характер. Наводки, обусловленные работой мышц имеют во многом те же характеристики, что и сам сигнал ЭКГ и по этому, серьезно маскируют возможные клинически значимые изменения сигнала. В этих условиях, простая фильтрация сигнала приводит к потере существенного количества информации. Проблема извлечения дополнительной клинически значимой информации из получаемого по телеметрии сильно зашумленного ЭКГ-сигнала, путем применения нетрадиционных методов его обработки, с учетом планируемого увеличения объемов работ, выполняемых вне герметичных отсеках космических аппаратов, в том числе и на поверхности других космических тел (Луна, Марс, астероиды), приобретает все более актуальное значение. Одним из примеров поиска методов получения дополнительной информации о состоянии человека путем анализа электрокардиографического сигнала является эксперимент «Космокард», выполняемый в настоящее время на борту Международной космической станции, научным руководителем которого является профессор Р.М. Баевский.

Руководствуясь выше изложенным, для анализа фрактальных характеристик ЭКГ нами были взяты интервалы записи сигнала ЭКГ в одном отведении, длительность которых была сопоставима со средней длительностью периодов работ, выполняемых в реальных ВКД.

Предпринятое нами исследование показало, что во всех случаях параметр Херста, как один из ключевых показателей, характеризующих фрактал, находился в интервале значений от 0 до 0,5. Это свидетельствует о том, что амплитудная характеристика ЭКГ-сигнала, на всех изученных нами длительностях записи, находится в районе антиперсистентности, то есть обладает свойством трендонеустойчивости. У такого сигнала отсутствует устойчивая средняя величина. Таким образом, полученные нами данные, позволяют прийти к заключению о том, что отправная точка (линии, или других ориентиров) для возможности отсчета от нее величин амплитудных характеристик сигнала, не может быть достоверно вычислена методами классической вариационной статистики, пригодными для расчета показателей стационарного процесса. В данном случае, при явной нестационарности процесса формирования амплитуды электрокардиосигнала, более оправдано для его изучения использовать непараметрические методы. В настоящее время одним из наиболее перспективных в этом отношении методов представляется метод сингулярного спектрального анализа.

Введение

Одним из наиболее надежных источников информации о состоянии космонавта при осуществлении выхода в открытый космос, т.н. внекорабельной деятельности (ВКД), является электрокардиограмма. В российских скафандрах серии «Орлан» для оценки состояния сердечно-сосудистой системы космонавта используется аппаратура «Бета» в различных модификациях. Традиционно, в этой аппаратуре используется одно отведение ЭКГ, т.н. D-S отведение, когда электроды расположены справа и слева на грудной клетке по средне-подмышечной линии на уровне 4-5 межреберья. Электрокардиографический сигнал передается по телеметрическим каналам связи с дискретизацией 200 Гц. Данная частота дискретизации является той предельно низкой частотой дискретизации, которая еще позволяет на кривой ЭКГ обнаружить помимо изменения ритма сердечных сокращений и большинство возможных, клинически значимых, отклонений в форме электрокардиографического сигнала и прежде всего эволюции сегмента S-T, характеризующего по современным представлениям явления ишемии миокарда. Снятие электрокардиограммы во время ВКД выполняемого в российских скафандрах осуществляется в течение всего времени нахождения космонавта в скафандре: от момента входа в скафандр, до момента выхода из него, т.е. превышает собственное время выхода в открытый космос. Длительность ВКД, т.е. работы в открытом космосе, российскими специалистами определяется промежутком времени от открытия до закрытия выходного люка шлюзовой камеры. Таким образом, длительность периода снятия ЭКГ у космонавта помимо работы в открытом космосе включает в себя дополнительно время необходимое для прямого и обратного шлюзования, десатурации, проверок герметичности и т.п. и может в совокупности составлять 8,5 - 10 часов непрерывной записи. Из-за возможных технических причин (перерывов в связи, радиопомех) запись ЭКГ может иметь перерывы, но в целом, представляет собой длительное мониторирование ЭКГ, сходное или с мониторированием ЭКГ в реанимационных отделениях, или с осуществляемым в клинической практике Холтеровским мониторированием. При мониторировании ЭКГ в отделении реанимации пациент находится на койке в состоянии физического покоя. При Холтеровском суточном мониторировании ЭКГ и во время ВКД человек находится в условиях активного двигательного режима. В связи с этим, две эти методики - Холтеровское суточное

мониторирование и запись ЭКГ при проведении ВКД имеют сходные проблемы. В обоих случаях, длительность регистрации ЭКГ приводит к появлению напряжения поляризации на границе кожа-электрод, что может оказать существенное влияние на амплитудные характеристики регистрируемого сигнала. И в том и в другом случае, при движении человека образуется большое количество помех, в том числе наводки от активности мышц, частотные характеристики которых лежат в том же диапазоне, что и частотные характеристики электрокардиографического сигнала. Эти явления в обоих случаях могут, а часто и приводят к маскировке полезного сигнала и не позволяют провести адекватной оценки возможных клинически значимых изменений на ЭКГ. Наибольшая сложность при этих помехах возникает при попытках выявить признаки ишемии миокарда, маскируемые смещением изолинии, происходящему как от одного кардиокомплекса к другому, так и в пределах одного электрокардиографического комплекса. Вместе с этим, существуют и отличия между условиями записи сигнала ЭКГ при ВКД и Холтеровском мониторинге. В последнем случае человек находится в т.н. условиях свободной двигательной активности, когда ему рекомендуется поддерживать привычный для него режим труда и отдыха. В противоположность этому, при выполнении ВКД в условиях орбитального полета (нужно иметь в виду, что имеются существенные отличия в характере физической нагрузки во время ВКД в условиях орбитального полета и при ВКД на поверхности планет) физическая нагрузка не характерна для обычного режима труда и отдыха космонавта. Физическая активность при нахождении космонавта в скафандре отличается не только и не столько по интенсивности, т.к. космонавты во время полета постоянно занимаются физическими упражнениями на различных тренажерах с целью профилактики неблагоприятного влияния невесомости, но и по биомеханике выполняемых движений с преимущественной нагрузкой мышц верхних конечностей и плечевого пояса, увеличение доли статического напряжения на этих группах мышц. Таким образом, количество помех, возникающих при записи ЭКГ во время ВКД существенно выше, чем при суточной записи ЭКГ в привычном для человека свободном двигательном режиме. В связи с этим, проблема маскировки клинически значимых изменений на ЭКГ в условиях ВКД помехами еще более выражена, чем при записи ЭКГ по Холтеру.

Все выше изложенное, заставляет искать инновационные способы извлечения клинически значимой информации из зашумленного помехами различной природы электрокардиографического сигнала. Одним из примеров поиска методов получения дополнительной информации о состоянии человека путем анализа электрокардиографического сигнала является эксперимент «Космокард», выполняемый в настоящее время на борту Международной космической станции, научным руководителем которого является профессор Р.М. Баевский. При этом используется аппаратура с существенно более высокой степенью дискретизации сигнала, по сравнению со штатной аппаратурой медицинского контроля (более 1000 Гц в аппаратуре «Космокард» при 200 Гц в аппаратуре «Бета») и существенно большая (в разы) степень усиления сигнала.

Целью настоящего исследования является изучение возможности применения метода сингулярного спектрального анализа временных рядов, применительно к анализу амплитудных и частотных характеристик электрокардиографического сигнала, получаемого со штатной аппаратуры, применяемой при медицинском контроле во время ВКД, без изменения степени дискретизации и усиления сигнала на этапе его первичного съема. Первым этапом такой работы является оценка фрактальных свойств ЭКГ-сигнала в одном отведении.

Достаточно часто в литературе методы анализа временных рядов применяют при анализе R-R интервалов, хотя в классическом понимании R-R интервалы не являются временным рядом. Они представляют собой набор интервалов (или длин отрезков) между аналогичными участками двух рядом стоящих комплексов ЭКГ, расстояние между которыми измерено в единицах времени (секундах, миллисекундах, долях минут и т.п.). Это и создает ошибочное представление о том, что R-R интервалы представляют собой временной ряд. Однако с таким же успехом эти расстояния могут быть измерены в единицах длины (сантиметрах, миллиметрах и т.п.), сущность интервальной оценки при этом остается такой же – измерение расстояний между аналогичными участками, находящихся рядом друг с другом комплексов ЭКГ и последующее сравнение между собой этих расстояний.

Исследование временного ряда в классическом понимании - это изучение динамики показателя, рассматриваемое при его развертке по временной оси. При этом временная ось представляет собой ось, на которой нанесены временные отрезки в порядке возрастания или убывания их значе-

ний в соответствии с каким-либо правилом (через равные промежутки, по отметкам на логарифмической шкале и пр.) независимой от измеряемого показателя. При исследовании электрокардиограммы в одном отведении классическим временным рядом будут являться значения разности потенциалов между двумя электродами измеренные через равные промежутки времени. В электрокардиографии чаще всего используется дискретизация электрокардиосигнала с частотой 250 Гц. Большая частота дискретизации сигнала ЭКГ при традиционной автоматической обработке или визуальной оценке ЭКГ не увеличивает количество и качество извлекаемой информации. Меньшая дискретизация – т.е. более редкая фиксация значений величины потенциала на электроде, приводит к частичной потере клинически значимой информации за счет невозможности достаточно точно определения начала и конца определенного комплекса или его истинной амплитуды.

Таким образом, запись величины электрического потенциала сердца, запомненная на каком-либо носителе информации с известной и постоянной временной дискретизацией является истинным временным рядом и с полным основанием может обрабатываться комплексом программ, разрабатываемых для исследования временных рядов. Одним из таких методов является самый современный метод сингулярного анализа. Преимуществом данного метода (комплекса методов) по сравнению с методами классической вариационной статистики является его малая чувствительность к нестационарности процесса.

Постоянное изменение и амплитуды и направления (выше и ниже изолинии, движение в прямом или обратном направлении) электрического потенциала сердца при его фиксации в одной точке является классическим примером нестационарного процесса, имеющего ярко выраженный периодический характер. Механизмы, лежащие в основе изменения величины и направления электрического потенциала сердца – это направление и скорость ионных потоков по ионным каналам мембраны кардиомиоцитов. Среди ионных каналов выделяют натриевые каналы, калиевые каналы, кальциевые каналы, анионные каналы. Каждый вид канала обладает определенной селективностью к тому или иному иону. Часть таких каналов имеет сенсоры (чувствительные элементы) и называются управляемыми, часть не имеет – и тогда они называются неуправляемыми. Кроме этого ионные каналы могут находиться в нескольких состояниях: открытом, закрытом и инактивированном

состоянии [1]. Все эти сложнейшие механизмы регуляции ионной проницаемости кардиомиоцитов в конечном счете находят свое отражение в разности потенциалов на поверхности мембраны сердечной клетки. Величина электрокардиографического потенциала, по сути, является результатом алгебраического суммирования огромного количества изменений потенциалов каждого кардиомиоцита в процессе сердечного цикла. Активность ионных каналов кардиомиоцитов тесно связана с работой т.н. ионных насосов – энергозависимых структур сердечных клеток, обеспечивающих восстановление разности потенциалов по обе стороны мембраны, после его изменения в процессе проведения возбуждения, т.е. косвенно, электрокардиографический сигнал, отражает и активность обменных процессов энергообразования в кардиомиоцитах.

Таким образом, электрокардиографический сигнал несет в себе огромный объем информации о самых глубинных процессах, протекающих в сердечных клетках, но он сильно зашумлен, в том числе наложением электрических эффектов одного процесса на другой. Постоянное изменение внутреннего состояния клетки приводит к постоянной смене ее электрического потенциала, делает этот процесс нестационарным во времени, и он становится недоступным для обработки стандартными методами вариационной статистики, которые, как хорошо известно, применимы только при стационарных процессах.

Но перед тем как говорить о применении методов обработки нестационарного временного ряда, каким является дискретизированная запись электрокардиографического сигнала, возникает вопрос: а как измерять степень нестационарности этого процесса? Одним из математических приемов, позволяющих в той или иной степени оценить нестационарность процесса или его изрезанность (в геометрическом смысле слова) является метод исследования его фрактальности. Данный метод впервые был применен для описания неровностей береговой линии. Графическая запись ЭКГ, если рассматривать ее с точки зрения амплитудных изменений величины электрического потенциала во времени, так же представляет собой кривую, имеющую сильно изрезанную форму. Кроме того, одной из основных характеристик фрактала является его самоподобие. Это значит, что при увеличении, маленькие фрагменты остаются очень похожими на большие. Вместе с тем, для реального природного фрактала имеются минимальная и максимальная длина, вне которой самоподобие, как основное свойство

фрактала, пропадает. Следует отметить, что к фракталам принято относить не только самоподобные, но и самоафинные объекты, т.е. те объекты, части которых могут быть приведены к целому через ряд преобразований [2]. Если мы рассматриваем электрокардиографический сигнал во времени, то он обладает в какой-то степени свойством фрактала (берем мы короткие или длительные участки записи кривой, они имеют определенное сходство между собой).

При описании фрактала одной из наиболее важных его характеристик является фрактальная размерность:

$$D = 2 - H,$$

где H – показатель Херста.

Вместе с ней (фрактальной размерностью), через показатель Херста часто вычисляют и другие фрактальные параметры:

Корреляционный параметр β вычисляемый по формуле $\beta = 2(1 - H)$

Спектральный показатель b вычисляемый по формуле $b = 2H + 1$ и

Фрактальный показатель α вычисляемый по формуле $\alpha = 3 - 2H$.

Как следует из приведенных формул, одним из ключевых показателей характеризующих фрактал является параметр Херста. В физическом смысле параметр Херста характеризует степень изрезанности (извилистости) исследуемого графика. Параметр Херста принимает значения в диапазоне от 0 до 1 ($0 < H < 1$). При малых значениях параметра Херста график функции имеет большую изрезанность, при больших значениях – изрезанность носит более плавный характер.

На первом этапе, изучения возможности использования нестандартного метода исследования электрокардиографического сигнала, представляет интерес проверить величины фрактальности амплитуд записи данного ЭКГ-сигнала.

Данная работа, по своим целям, задачам и применяемым методам полностью соответствует целям и задачам научной платформы «Кардиология и ангиология» представленной в приказе Министерства

здравоохранения РФ №281 (в редакции приказа №674) [3] и соответствует направлению «Разработка инновационных методов диагностики сердечно-сосудистых заболеваний на ранних стадиях».

Материалы и методы

Для проведения подобного исследования мы решили использовать записи ЭКГ сигналов базы данных Российского общества Холтеровского мониторирования и неинвазивной электрофизиологии (РОХМиНЭ) [4], находящиеся в открытом доступе в среде интернет. Данные базы реализованы в формате MIT-BIH используемом так же в международном пакете WFDB Software Package. База РОХМиНЭ сформирована из трехканальных записей ЭКГ. Одной из задач данной базы является предоставление материалов для отработки и тестирования программного обеспечения, направленных на распознавание комплексов QRS и желудочковых аритмий в условиях зашумленного сигнала ЭКГ. В базе имеются записи и нормальных электрокардиограмм.

Первой задачей, которую мы себе поставили, являлось испытать программу, созданную для определения величины показателя Херста, на участках записи ЭКГ различной длительности. Так как работа проводилась с учетом того, что в перспективе применение данных подходов будет использовано при обработке кардиосигнала получаемого в процессе ВКД, мы ориентировочно проанализировали циклограммы реальных выходов в открытый космос с целью выяснения средней длительности выполняемых в процессе ВКД технических операций, см. табл. 1.

Получилось, что максимальное количество технических операций во время ВКД имеют длительность около 10 мин. Довольно большая часть операций имеет длительность 5 и 15 мин. Суммарно, технические операции такой длительности составляют 82,1 % от общего количества проводимых технических операций во время ВКД. Более длительные операции встречаются доста-

Таблица 1

Длительность операций выполняемых в процессе ВКД

Плановая длительность операции в мин.											
1-4	5-9	10-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-60
Число выполненных в ходе 27 ВКД операций данной длительности											
288	348	199	73	32	28	32	11	1	2	1	2
% операций данной длительности от числа (1017) проанализированных операций											
28,32	34,22	19,57	7,18	3,15	2,75	3,15	1,08	0,10	0,20	0,10	0,20

точно редко, по всей вероятности при планировании их разбивают на более мелкие логически завершённые этапы, более короткой длительности. Руководствуясь этим, мы из имеющихся в базе РОХМиНЭ записей ЭКГ выбрали записи с нормальной ЭКГ и выделили из них участки длительностью 1 мин., 5 мин, 10 мин., 15 мин. И 30 мин. Таким образом, мы попытались проверить как работает использованная нами программа определения показателя Херста на участках записи одного отведения ЭКГ различной продолжительности. Для исключения влияния случайных факторов, связанных с различиями в коэффициентах усиления различных записей ЭКГ представленных в базе, мы в нашем исследовании использовали один и тот же фрагмент записи амплитуды кардиосигнала с дискретизацией 250 Гц, который поочередно разбивали на одно минутные участки, пяти минутные участки, десяти минутные участки и так далее. При таком подходе мы оценивали влияние на характер обработки только одного параметра – длительности выбранного для анализа участка записи ЭКГ, исключая возможные девиации амплитудных и других характеристик ЭКГ зависящих от иных не учтенных факторов.

Результаты и их обсуждение

При рассмотрении величин показателя Херста в участках записи ЭКГ-сигнала одинаковой длительности показатель Херста колебался в диапазоне от 0 до 0,5 и составлял для участков записи ЭКГ-сигнала длительностью 1 мин. В среднем 0,185 для участков длительностью 5 мин. – 0,116 для участков длительностью 15 мин – 0,112. При этом максимальные отклонения от средней величины внутри каждой из групп превышали разницу между средними величинами групп. Таким образом, различия в показателе Херста вычисленные нами на участках записей сигнала ЭКГ различной длительности не выявили статистически значимых отклонений, хотя имели определенную тенденцию к уменьшению с увеличением длительности выбранного для обработки интервала записи рис. 1.

Наличие такого тренда в физическом смысле свидетельствовало о том, сто с увеличением длительности рассматриваемого интервала ЭКГ-записи, ее амплитудные характеристики все более и более сдвигаются в сторону антиперсистентности, т.е. все более подвержены влиянию внешних воздействий, уводящих систему в сторону трендо-неустойчивости [5].

В то же время, максимальные значения показателя Херста были выявлены при об-

работке сигналов ЭКГ длительностью 1 мин. Возник вопрос: а как поведет себя этот показатель при длительности отрезка менее 1 минуты? Ведь, как мы упоминали выше, в реальных условиях фрактальность может иметь границы (верхнюю и нижнюю). Для выяснения этого вопроса нами были выделены для обработки участки ЭКГ-записи длительностью менее одной минуты. Для сохранения преемственности с интервалами, взятыми для анализа в предыдущей серии, мы взяли для обработки участки записи ЭКГ длительностью 1, 5, 10, 15 и 30 секунд.

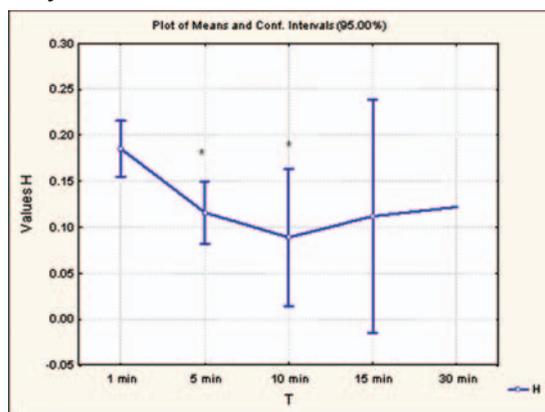


Рис. 1. Величина показателя Херста от длительности интервала ЭКГ

При обработке сигналов такой длительности были получены результаты, представленные в табл.2.

Таблица 2

Величина показателя Херста от длительности интервала ЭКГ

Длительность интервала ЭКГ в сек	Величина показателя Херста
1	0,322
5	0,092
10	0,073
15	0,058
30	0,089

Как видно из таблицы, величина показателя Херста и в случае с обработкой секундных интервалов находилась в зоне антиперсистентности. Причем в основном значения показателя Херста были даже ниже, чем для серии, (кроме односекундных интервалов) где исследовались участки записи ЭКГ-сигнала длительностью от одной до нескольких минут. Однако средние значения для обоих масштабов (минутного и секундного) были практически одинаковы: 0,125 для минутного масштаба и 0,127 при измерении секундных интервалов записи ЭКГ.

Таким образом, выполненное нами исследование показало, что использованная методика обработки временного ряда напряжения электрокардиографического сигнала в одном отведении, при различной длительности исследуемых участков записи, от одной секунды до 30 мин не выявила существенной разницы в величине показателя Херста. Его абсолютные значения свидетельствовали о том, что устойчивость тренда уровня напряжения на электродах находилась в зоне антиперсистентности (во всех случаях ниже 0,5). По мнению В. Ларина [6] антиперсистентность показателя Херста (т.е. в случае, когда его значения располагаются в диапазоне от 0 до 0,5) подразумевает отсутствие устойчивого среднего.

Как мы говорили выше, уровень напряжения на ЭКГ-электродах является суммарным отражением электрических характеристик мембран кардиомиоцитов и несет в себе интегральную информацию о функциональном состоянии процессов обмена различными ионами между внутренней и внешней стороной клеточной мембраны. При развитии ишемических явлений в сердечной мышце, прежде всего, страдают эти процессы. Их изменение находит отражение в форме ЭКГ-сигнала и в частности в амплитудном отклонении некоторых ее участков [7]. Однако и при ручной и при автоматической обработке ЭКГ наибольшую сложность при обнаружении этих амплитудных сдвигов представляет определение той изолинии по отношению к которой необходимо оценивать величину смещения того или иного участка кривой. Для преодоления этих трудностей предложено множество способов: соединение прямой линией окончания двух зубцов Р на рядом расположенных комплексах ЭКГ; по отношению к концу зубца Р того комплекса в котором проводится измерение смещения интересующего сегмента; в качестве изолинии принимается отрезок RQ оцениваемого ЭКГ-комплекса и ряд других. И если говорить о попытках оценки ишемических явлений такими способами при высокой тахикардии, вызванной физическими нагрузками, то многие исследователи вообще отказываются от такой оценки. Результаты нашего исследования показали, что фрактальная характеристика электрокардиографического сигнала обладает резко выраженным свойством антиперсистентности. То есть с точки зрения порталности кривая ЭКГ, вбирающая в себя совокупность процессов ионных потоков в кардиомиоцитах, не имеет тенденции к устойчивому среднему. Отсюда следует, что среди всей совокупности точек, характеризующих данный процесс (в

исследованных нами временных интервалах) невозможно найти устойчивую точку отсчета для объективной оценки амплитудных характеристик ЭКГ.

Наличие множества вариантов оценки уровня изолинии, по отношению к которой необходимо оценить величину смещения определенного участка ЭКГ-записи приводит к неоднозначной оценке клинической значимости наблюдаемых изменений при использовании различных подходов.

Полученные нами данные указывают, что у данной кривой (величины напряжения в структуре временного ряда электрокардиографического сигнала выраженной в милливольтах) отсутствует устойчивая средняя величина, по отношению к которой можно было бы говорить о сдвиге какого либо участка вверх или в низ относительно нее. В рассматриваемых нами участках ЭКГ-сигнала различной длительности, даже в самых коротких записях длительностью в одну секунду, попадало от одного до 3 комплексов ЭКГ, в зависимости от частоты сердечных сокращений. Но даже на таких коротких промежутках записи показатель Херста был существенно ниже 0,5. То есть даже на таких коротких участках записи, средняя величина напряжения электрокардиографического сигнала не может быть рассчитана как устойчивая средняя величина, по отношению к которой можно было бы объективно и точно измерять амплитуду зубцов и интервалов ЭКГ. В одном взятом для исследования интервале получить такую среднюю можно, но уже в следующем, даже близь лежащем интервале, необходимо рассчитывать новую среднюю величину и амплитудные характеристики электрокардиографического сигнала на этом участке записи измерять уже по отношению к иной, чем в первом случае средней (или преобразованной средней). Таким образом, не стационарность процесса амплитудных характеристик, выявленная нами, путем исследования фрактальных характеристик временного ряда электрокардиографического сигнала, свидетельствует о неприменимости приемов вариационной статистики (вычисление средней истинной или преобразованной) и указывает на необходимость поиска иных критериев оценки.

В настоящее время, наиболее корректным методом оценки характеристик электрокардиографического сигнала, с целью выявления признаков ишемии (кислородной недостаточности) миокарда, представляется метод спектрального частотного анализа напряжения на электродах ЭКГ, как истинного временного ряда. С точки зрения доказательной медицины, использование

классического метода оценки амплитудных отклонений от некоторой изоэлектрической линии (фактически преобразованной средней), которую, в математическом понимании, невозможно достоверно установить по причине нестационарного характера изучаемого процесса, не совсем оправдано. Поиск более объективных, математически доказательных методов оценки этих явлений (ишемии миокарда) остается одной из актуальных задач современного этапа медицинской науки о деятельности сердечно-сосудистой системы. Особое значение поиск этих новых критериев имеет при оценке состояния космонавтов при выполнении работ вне герметичных отсеков космических аппаратов, как в условиях орбитального полета, так и при работе на поверхности других планет. Однако, до внедрения этих методов в практику медицинского обеспечения космических полетов, они должны пройти серьезную клиническую апробацию, в том числе с использованием специальных баз данных электрофизиологической информации, созданных специально для отработки и апробации новых методов их обработки и оценки клинической значимости.

Выводы

Обработка отрезков записи электрокардиографического сигнала, длительность которых соответствовала длительности периодов физической активности космонавтов при выполнении работ вне герметичных отсеков космического корабля, методом сингулярного анализа, выявила наличие в данном сигнале некоторых признаков фрактальности.

Полученные при этом анализе величины показателя Херста свидетельствуют о том, что амплитудная характеристика ЭКГ – сигнала имеет сильно выраженный антиперсистентный характер, т.е. в амплитудных характеристиках данного сигнала явно выражена тенденция к отсутствию устойчивого среднего значения. Последнее косвенно может свидетельствовать о том, что используемый в программах автоматической обработки электрокардиографического сиг-

нала метод амплитудной оценки ЭКГ, опирающийся на сравнение амплитуды сигнала с уровнем изоэлектрической линии (некоторой преобразованной средней) не отвечает необходимому, с точки зрения доказательной медицины, уровню точности и надежности.

Наиболее перспективным методом исследования электрокардиографического сигнала, как истинного временного ряда, представляется исследование возможности использования метода сингулярного спектрального анализа, который в отличие от методов вариационной статистики пригоден для анализа нестационарных процессов. Наиболее сложной задачей при этом является установление клинически значимых характеристик получаемых результатов в ходе такого анализа.

Список литературы

1. Бокерия О.Л., Ахобеков А.А.. Ионные каналы и их роль в развитии нарушений ритма сердца. *Анналы аритмологии*, 2014; 11(3): с.177-184.
2. Короленко П.В., Маганова М.С., Меснянкин А.В. Новаційні методи аналізу стохастических процесов и структур в оптике. (Фрактальные и мультифрактальные методы, вейвлет-преобразования), Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д.В. Скобельцына, Кафедра оптики и спектроскопии отделения ядерной физики физического факультета МГУ, Москва 2004 г. с.81.
3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30 апреля 2013 г. № 281 « Об утверждении научных платформ медицинской науки» (в редакции приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от «23» сентября 2015 г. № 674).
4. База данных РОХМиНЭ, <http://www.rohmine.org/baza-dannykh-rokhmine/>.
5. Бельков Д.В., Едемская Е.Н., Незамова Л.В., Едемская Т.А. Анализ потерь пакетов при передаче UDP-трафика/ Зб. матеріалів 2-ї всеукраїнської науково-технічної конференції «Інформаційні управляючі системи та комп'ютерний моніторинг» 11-13 квітня 2011р., Том 1. Донецьк, Дон НТУ, 2011. – с. 249-253.
6. Ларин В. R/S анализ в применении к западному и российскому фондовому рынку/ в кн. «Развитие фондового рынка в России» Материалы II Межвузовской конференции. М.: Издательский дом ГУ ВШЭ, 2005. 216 с. - ISBN 5-7598-0353-0
7. Жаринов О.И., Фуркало Р.К., Гетьман Т.В. Пробы с дозированной физической нагрузкой. В кн. «Руководство по кардиологии» под редакцией В.Н. Коваленко, Киев, Морион, 2008, с.261-276.

УДК 631

РАЗРАБОТКА КОНЦЕПТУАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЭКСПЕРТНЫХ СИСТЕМ В РАЗПОЗНАВАНИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Халдаров Х.А., Саттаров Ш.Ш., Инагамов С.Я.

*Ташкентский университет информационных технологий г. Ташкент, Khaldarov1946@mail.ru
Ташкентский Фармацевтический Институт, г.Ташкент*

Данная статья посвящена концептуальной разработке технического, программного, математического и информационного обеспечения в разработке распознающих систем для проектирования биотехнологических процессов с помощью информационно коммуникационных технологий. Показано, что сбор данных всех существующих лекарственных трав и растений требует в свою очередь разработки и создания Базы Данных для определения оптимальных режимов управления технологическим процессом подготовки лекарств без потери сырья и ее сбора и сушки. А это в свою очередь приводит к определению физико-химических свойств лекарственных трав и растений при их сборке, сушке и хранении. Для этого требуется анализ, измерения и определения в нашем случае с использованием распознавания структуру и свойства растений перед изготовлением лекарства на основе цвета растения с помощью видео глаза даст оптимальный вариант управления технологическим процессом.

Ключевые слова: преобразователи, усилители, видео-глаз, датчики, тензор датчики, сенсоры, техническое, программное, информационное, математическое обеспечение, распознающие системы, микроконтроллер

DEVELOPMENT OF CONCEPTUAL MODELS OF EXPERT SYSTEMS IN THE RECOGNITION OF BIOTECHNOLOGICAL PROCESSES

Khaldarov H.A., Sattorov Sh.Sh., Inagamov S.Y.

*Tashkent University of Information Technologies Tashkent, Khaldarov1946@mail.ru
Tashkent Pharmaceutical Institute, Tashkent*

This article focuses on the conceptual development of the technical, software, mathematical and information support in the development of recognition systems for the design of biotechnological processes using information and communication technologies. It is shown that the collection of data of all existing medicinal herbs and plants, in turn, requires the development and creation of a database to determine the optimum control mode the process of preparation of medicines without loss of raw materials and its collection and drying. This, in turn, lead to the determination of physico-chemical properties of plants and herbs in their assembly, drying and storage. This requires analysis, measurement and determination in this case using a detection structure and properties of plants to manufacture drugs based on the color of the plants via video eyes give optimum process control option. control of biotechnological processes of drying and manufacturing of medical drugs from medicinal herbs. It is proposed to study the stages of expert model developed biotechnological process.

Keywords: converters , amplifiers, Video-Eye, sensors, sensors tensor, sensors, technical, software, Information software , mathematical software, the system of recognizing, Database , board, microcontroller

Целью исследовательской работы является разработка концептуальных моделей биотехнологических процессов в создании распознающих систем биотехнологических процессов на примере распознавании цвета.

В проведении экспериментальных - лабораторных работ биотехнологических процессов исследователю приходится, сталкиваться с распознаванием: запаха, вкуса, цвета получаемого агента и со звуком проводимого технологического процесса, которые, являются результатом проводимого эксперимента. Так как, исследование является непрерывным, т.е. итерационным процессом, то до получения конечного, т.е. оптимального результата необходимо проводить экспериментально и многократно.

В связи с этим, в целях улучшения и ускорения, а также повышения качества проводимого исследования предлагается

разработка распознающей системы, где исследуемый биотехнологический процесс, которое непосредственно связан: с цветом исследуемого агента.

В настоящее время в фармацевтической промышленной отрасли, потребительский интерес становится более востребованным к естественным лекарствам растительным средствам, чем синтетическим, потому что она является природным и не дает осложнения человеческому организму.

А это в свою очередь приводит к исследованию и определению физико-химических свойств лекарственных трав и растений при их сборке, сушке и хранении. Для этого требуется анализ, измерения и определения в нашем случае с использованием распознавания структуру и свойства растений перед изготовлением лекарства на основе цвета растения с помощью видеоглаза

даст оптимальный вариант управления технологическим процессом.

В связи с чем, нами предлагается распознавание цвета растительных трав или веществ, перед технологической обработкой и изготовлением лекарств, с целью сохранением полноценных необходимых свойств.

Исследования показывают что, сбор данных всех существующих лекарственных трав и растений в нашей стране требует в свою очередь измерение и разработка для создания Базы Данных в определения оптимальных режимов управления технологическим процессом подготовки лекарств без потери сырья и ее сбора и сушки.

Нами предлагается методика распознавания цвета лекарственных трав, которое является эффективным, дешевым, удобным и не требует вмешательства разных технических средств.

Для этого необходимо разработать:

- технического обеспечения устройства, которые измеряют или фиксирует аналоговые величины/импульсы проводимого биотехнологического процесса; а также преобразующие устройства для преобразования полученных импульсов в сигнал;

- разработать концептуальные модели, связанные с определением методов исследования биотехнологических процессов:

- создать:
- имитационную модель проводимого биотехнического процесса;

- математические модели объекта исследования, которые описывают проводимую биотехническую процесс;

- используются математические и стандартные статистические методы и алгоритмы решения;

- информационное обеспечение, связанное с накоплением и обработкой полученных результатов;

- программное обеспечение, распознающей системы биотехнологического процесса исследования.

Процесс исследования проводимого биотехнологического процесса состоит из следующих этапов:

- I этап разработка принципиальной электрической схемы объекта измерения;

- II этап – измерение параметров объекта исследования (в проведение измерения выше указанных параметров (звука, запаха, цвета и вкуса);

- III этап – усиление полученных непрерывных данных из объекта исследования (звука, запаха, цвета и вкуса);

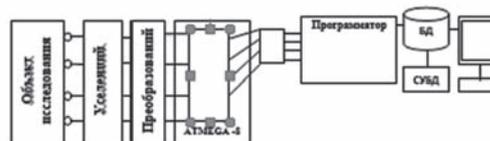
- IV этап – преобразование полученных непрерывных импульсов с помощью аналогово-цифрового преобразователя, в цифровую;

- V этап – запись в Базу Данных;

- VI этап – расчет с помощью заранее составленной программы с использованием соответствующих математических методов;

- VII этап – обработка результатов эксперимента и оформление научного отчета в соответствии со стандартом ISO.

Выше перечисленные этапы исследования являются техническим проектом, но в технологическом смысле биотехнологического процесса проведение, как приведено в структурной схеме 1.



Этапы 2-3-4 ТП осуществляется с использованием платы ArduinoMega 2560 с помощью микроконтроллера AT Mega 2560, которая имеет 54 цифрового пина ввода/вывода информации, где 15 их них могут быть использованы как выходы ШИМ (шина информационной магистрали).

При работе с этой платой необходимо подключить ее к компьютеру с помощью интерфейса USB или же подать питание с источника постоянного тока (например -батарейки). Одним из лучших свойств является совместимость с большинством плат расширения, т.е. – шилдов, разработанных для Arduino UNO, Duemilanoveили Diecimila.

Одним из основных параметров исследования биотехнологического процесса является точность, так как она проводится в нескольких этапах. А также необходимо учесть точность: измерения, усиления, и метода вычисления, которые дают суммарную-допустимую точность исследования биотехнологического процесса на каждом ее этапе исследования. Для этого необходимо подобрать/настроить фиксирующий / измерительный прибор по соответствующим параметрам, учитывая их max/minих колебаний описывающий технологический процесс.

Так как данная работа является научно-исследовательской, то необходимо разработать и создать:

- **техническое обеспечение**, которое состоит из логических элементов вычислительной техники и автоматики, устройствами и оборудованием как: (микрофон, подслушивающий аппарат распознающий - звук); webcamга/видео глаз распознающие: цвет;тензор-датчик и датчики разных видов и марок фиксирующий – вкус;чувствительные элементы электрони-

ки -фиксирующие запах; и преобразователи аналогового на цифру, и обратное;

- **информационное обеспечение** системы: в виде Базы Данных, которая состоит из двух частей:

- первое это заранее заложенные стандартные данные про цвета лакмуса или запаха или вкуса, полученного агента технологического процесса, т.е. полученные результаты;

- и второе полученные данные распознающим электронным элементом цвет, запах, звук и вкус исследуемого агента, заносимые в Базу Данных, которые будут: сопоставляться со стандартными цветами.

Рассчитывается разными методами, измеряется разными видами приборов и электронных схем.

Со стандартным;

- **программное обеспечение** состоит из двух частей:

- первое это программный продукт, который будет разработан для распознавания звука, вкуса, запаха и цвета, по отдельности используя математическую логику и т.д.

- и второе - программа, которая будет управлять над всеми технологическими процессами, распознающей системы в процессе исследования;

- математическое обеспечение состоит из следующих работ:

- методов обработок, полученных данных после спектрального анализа агента, т.е. калибровки;

- разработке новых методов расчетов в исследовании;

- вычисление и определение оптимальных результатов исследования,

в распознавание цвета биотехнологического процесса.

В настоящее время в фармацевтической промышленной отрасли, потребительский интерес становится более востребованным к естественным лекарственным растительным средствам, чем синтетическим, потому что она является природным и не дает осложнения человеческому организму.

А это в свою очередь приводит к определению физико-химических свойств лекарственных трав и растений при их сборке, сушке и хранении. Для этого требуется анализ, измерения и определения в нашем случае с использованием распознавания структуру и свойства растений перед изготовлением лекарства на основе цвета растения с помощью видео глаза даст оптимальный вариант управления технологическим процессом.

Из – за этого нами предлагается распознавание цвета растительных трав или веществ, перед технологической обработкой

и изготовлением лекарств с целью сохранением полноценных необходимых свойств.

Исследования показывают что, сбор данных всех существующих лекарственных трав и растений в нашей стране требует в свою очередь разработки и создания Базы Данных для определения оптимальных режимов управления технологическим процессом подготовки лекарств без потери сырья и ее сбора и сушки.

Нами предлагается методика распознавания цвета лекарственных трав, которое является эффективным, дешевым, удобным и не требует вмешательства разных технических средств.

Выводы: Результатом исследования разработки, распознающих систем биотехнологических процессов являются:

- самое главное сохранение здоровья человека-исследователя от разных вредных – составляющих: запахов, шума, запаха и т.д.;

- успешное сокращение срока исследования;

- получение оптимального результата исследования в системе распознаваний выше указанных;

- достижение точности проводимого измерения и исследования;

- сбор информации об объекте исследования и создание Базы Знаний; изображение, цвет, запах, вкус;

- на основе проведенных научных исследований и по полученным данным разработать имитационную модель объекта исследования для проведения дальнейших исследований с учетом выявления других параметров биотехнологических процессов;

- разработка рекомендаций при ведении научно-исследовательских работ в области биотехнологических процессов;

- определение качественных характеристик, как:

- оптимальное управление технологическим процессом;

- исследование устойчивости управления технологическим процессом;

- расчет надежности управления технологическим процессом;

- исследование чувствительности и грубости системы к другим параметрам проводимых экспериментов и т.д.;

- внедрение достигнутых результатов, проведенных исследований в народное хозяйство;

- использование результатов исследований в учебном процессе;

- и самое главное выигрывать во времени.

Список литературы

1. Халдаров Х.А., Саттаров Ш.Ш. Разработка экспертных систем распознавания цвета в исследовании биотехнологических процессов. V - Международная конференция

«Актуальные проблемы молекулярной спектроскопии конденсированных сред», СамГУ, 2016, 157-158 с.

2. Халдаров Х.А., Саттаров Ш.Ш. Разработка экспертных систем распознавания звука в исследовании биотехнологических процессов. V - Международная конференция «Актуальные проблемы молекулярной спектроскопии конденсированных сред», СамГУ, 2016, 159-160 с.

3. Василенко, Г. И. Голографические распознающие устройства [Текст] : монография / Г. И. Василенко, Л. М. Цибулькин. - М. : Радио и связь, 1985.

4. Таунсенд, К. Проектирование и программная реализация экспертных систем на персональных ЭВМ [Текст] : пер. с англ / К. Таунсенд, Д. Фохт. - М. : Финансы и статистика, 1990. - 320 с.

5. Expert systems applications in integrated network management [Text] / Editors Eric C. Ericson, Lisa Traeger Ericson, Daniel Minoli. - Boston ; London : Artech House, Inc., 1989. - 451 p.

6. Искусственный интеллект: В 3 кн. Кн. 1. Системы общения и экспертные системы [Текст] : справочник / Под ред. проф. Э. В. Попова. - М. : Радио и связь, 1990. - 464 с.

УДК 574.474:595.72

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕКРЕАЦИОННОГО ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ НА НАСЕЛЕНИЕ ПРЯМОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ (ORTHOPTERA) КАТУНСКОГО РЕКРЕАЦИОННОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ

Худякова Н.Е., Малков П.Ю., Худякова Т.С.

ФГБОУ ВО "Горно-Алтайский государственный университет", Горно-Алтайск,
e-mail: nch752@bk.ru, malkovi@bk.ru

На основе анализа результатов количественных учетов методом кошения в травяном покрове лесных и луговых ландшафтов Катунского рекреационного района Республики Алтай проведена оценка характера воздействия туризма и рекреации на видовое богатство, суммарное обилие и разнообразие сообществ прямокрылых насекомых. Показано, что население прямокрылых реагирует на туристско-рекреационное воздействие качественными и количественными перестройками видового состава и структуры. Выявлена высокая статистически достоверная корреляция между индексами Шеннона и Симпсона, а также между этими индексами и числом видов. В зависимости от типа ландшафта рекреационный фактор может, как способствовать увеличению ширины распространения и численности отдельных видов прямокрылых, так и оказывать негативное ограничивающее действие. Локальные исчезновения или снижения численности стенотопных видов на рекреационных территориях, как правило, компенсируются заселением новых более антропопотолерантных элементов.

Ключевые слова: прямокрылые насекомые, сообщества, рекреация

ASSESSMENT OF INFLUENCE OF RECREATIONAL LAND USE ON POPULATION OF ORTHOPTEROUS INSECTS (ORTHOPTERA) IN THE KATUN RECREATION DISTRICT OF THE ALTAI REPUBLIC

Khudyakova N.E., Malkov P.Yu., Khudyakova T.S.

Gorno-Altai State University, Gorno-Altai, e-mail: nch752@bk.ru, malkovi@bk.ru

The assessment of tourism and recreation impact on species richness, total abundance, and diversity of orthopterous communities in forest and meadow landscapes of the Katun recreation district of the Altai Republic has been carried out based on analysis of quantitative data obtained through sweep-net method. It is shown that the community of orthopterous insects reacts to tourism and recreational influence by qualitative and quantitative reorganizations of its species composition and structure. The high statistically reliable correlation between Shannon and Simpson indexes and also between these indexes and the number of species has been identified. Depending on the landscape type the recreational factor can either cause the increase in the width of distribution and the number of some species of orthopterous insects, or have negative and limiting effect. Local disappearances or decreases in the number of stenotopic species in recreational territories as a rule are compensated by new more anthropotolerant elements populating them.

Keywords: orthopterous insects, communities, recreation

По степени воздействия на экосистемы туристско-рекреационная деятельность занимает сравнительно скромное место по сравнению с множеством иных факторов антропогенного происхождения. Вместе с тем проблеме оценки силы и характера ее влияния справедливо уделяется пристальное внимание, так как сохранение разнообразия является не только обязательным условием для поддержания стабильности экосистем, но и становится существенным фактором повышения их привлекательности для отдыхающих [5]. В значительной степени это обусловлено тем, что рекреационные территории, как правило, представляют собой уникальные природные объекты, для которых характерна повышенная концентрация биологического разнообразия, зачастую сочетающаяся с наличием редких и эндемичных компонентов.

Алтайские горы представляют собой важный центр туризма и отдыха в Сибири.

Последствия неорганизованного туризма на наиболее популярных объектах в последнее время здесь стали проявляться со всей очевидностью. В значительной мере это относится к Катунскому рекреационному району, выделенному по комплексу природно-экономических характеристик [12]. Специальные исследования позволили выявить ряд негативных перестроек в состоянии различных экосистемных компонентов в этом районе [2-4]. Цель представленной работы – оценить характер трансформации сообществ прямокрылых насекомых (Orthoptera) под воздействием туристско-рекреационных нагрузок в условиях Катунского рекреационного района.

Материалы и методы

Влияние туристско-рекреационной деятельности на состояние сообществ прямокрылых насекомых изучали на примере четырех низкогорных ландшафтов Катунского

рекреационного района Алтая. Население Orthoptera в каждом из ландшафтов оценивали в двух вариантах – с высоким и относительно низким уровнем антропогенного воздействия.

Сосново-березовые леса низкогорной части долины реки Катунь представляют собой одно из любимых мест отдыха туристов на Алтае. Места неорганизованного и частично организованного отдыха сконцентрированы по побережью. На участках, удаленных от Катунь или труднодоступных для автотранспорта, уровень туристско-рекреационного воздействия резко снижается.

Исследованные луговые биотопы долины Катунь мозаично перемежаются с сосново-березовыми участками. Уровень туристско-рекреационного воздействия на этот ландшафт в целом совпадает с предшествующим. Удаленные от Катунь луговые участки, кроме того, испытывают умеренный прессинг как пастбища или покосы.

Суходольные луговые биотопы обследованы в окрестностях города Горно-Алтайска. Участок с высоким уровнем антропогенной нагрузки представляет собой горнолыжную трассу, склоны которой в теплое время года также привлекают отдыхающих. Наибольший уровень рекреационного влияния приходится на зимний период.

Березовые леса низкогорной части Алтая в целом малоинтересны для туристов. Измененный вариант ландшафта обследован на территории пригородного рекреационного объекта “Еланда”, имеющего неплохо развитую инфраструктуру (пруд, конные маршруты, автобусная остановка и др.). Объект в основном посещают жители Горно-Алтайска.

Учеты проводили в 2016 г. до начала массового приезда туристов (конец мая – начало июня), в разгар туристического сезона (конец июля – начало августа) и ближе к его окончанию (начало сентября). Для выявления обилия использовали традиционный метод кошения энтомологическим

сачком. Принято, что результаты отлова за пятьдесят взмахов, отражают плотность прямокрылых на 1 м² травянистой поверхности [1, 8]. Устойчивость биотопических группировок прямокрылых оценивалась на основе анализа числа встреченных видов, суммарной плотности, индексов разнообразия Шеннона и Симпсона. Хронологические характеристики прямокрылых приводятся в соответствии с классификацией М.Г. Сергеева [6]. Статистическую достоверность различия индексов разнообразия оценивали с помощью ресэмплинга перестановочным (permutation) тестом [10] при 9999 рандомизациях. Все вычисления осуществляли с использованием программ Microsoft Excel и Paleontological Statistics [11].

Результаты и обсуждение

Видовой состав и соотношения по обилию во всех исследованных группировках прямокрылых подвержены существенным изменениям во времени. Ранее Н.Е. Худяковой [9] на представительном во времени материале было продемонстрировано, что в Северном Алтае в таксоценах Orthoptera за теплый период года прослеживается шесть сезонных аспектов имаго. В данном случае сроки проведения полевых исследований охватывают только раннелетний, летний и позднелетний аспекты.

Раннелетний аспект сформирован минимальным количеством видов, представленных небольшим числом имаго (табл. 1). Большинство видов прямокрылых в это время находятся в преимагинальных стадиях развития. Широко встречается только короткоусый прыгунчик *Tetrix bipunctata*, принадлежащий к жизненной форме герпетобионтов. Не обнаружен он лишь на участках с высокой рекреационной нагрузкой в сосново-березовых лесах долины р. Катунь, а также, наоборот, в местах со слабой нагрузкой в низкогорных березовых лесах. Скорее всего, это свидетельствует о агрегированности его распределения в лесных

Таблица 1

Раннелетний аспект сообществ прямокрылых насекомых Катунского рекреационного района в 2016 году, экз./м²

Вид	сосново-березовые леса		долинные луга		суходольные луга		березовые леса	
	В	Н	В	Н	В	Н	В	Н
<i>Tetrix bipunctata</i>	0	0,8	0,4	0,8	0,8	0,4	0,8	0
<i>Chorthippus parallelus</i>	0	0	0	0	0	0	0,4	0,8
<i>Euthystira brachyptera</i>	0	0	0	0	0	0,4	0	0
Видовое богатство	0	1	1	1	1	2	2	1
Суммарное обилие	0	0,8	0,4	0,8	0,8	0,8	1,2	0,8

Условные обозначения: В – высокий, Н - низкий уровень туристско-рекреационного воздействия.

ландшафтах и не имеет прямого отношения к рекреационному фактору, так как однозначная связь отсутствует. Из прочих видов в березовых лесах на разнотравно-злаковых полянах зарегистрирован короткокрылый конек *Chorthippus parallelus*, а на участках суходольных лугов с низкой антропогенной нагрузкой - короткокрылый зеленчук *Euthystira brachyptera*.

Летний аспект прямокрылых насекомых характеризуется переходом большинства видов в дефинитивную фазу развития, что обуславливает максимальный уровень видового богатства и суммарного обилия имаго (табл. 2). Сопоставление внутриландшафтных отличий в сообществах Orthoptera контрольных и рекреационных участков показывает, что последние, как правило, бывают освоены большим числом видов. В частности, в лесных ландшафтах антропогенное изменение структуры травяного покрова позволяет поддерживать сравнительно высокую плотность северостепным и луговым видам - короткокрылому мечнику *Conocephalus dorsalis*, конькам измен-

чивому *Glyptobothrus biguttulus* и бурому *Chorthippus apricarius*. В подверженных рекреационному воздействию луговых участках долины р. Катунь отмечена более высокая плотность полизональной белополюсой кобылки *Chorthippus albomarginatus*, перелетной саранчи *Locusta migratoria*, а также двух неморальных видов - большой болотной кобылки *Stethophyma grossum* и зеленой болотной кобылки *Mecostethus alliaceus*. Плотность их популяций в аналогичном ландшафте, но на слабонарушенных рекреацией участках заметно ниже, либо они там вообще не обнаружены. Отклонение от указанной тенденции свойственно суходольным лугам, где в контроле встречено на один вид больше, чем на рекреационном участке. В результате воздействия рекреационного фактора из состава сообщества прямокрылых в данном случае выпадают короткокрылый зеленчук *Euthystira brachyptera*, толстоголовая травянка *Stenobothrus lineatus*, чернокрылая кобылка *Megaulacobothrus aethalinus*, короткокрылый мечник *Conocephalus dorsalis*,

Таблица 2

Летний аспект сообществ прямокрылых насекомых Катунского рекреационного района в 2016 году, экз./м²

Вид	сосново-березовые леса		долинные луга		суходольные луга		березовые леса	
	В	Н	В	Н	В	Н	В	Н
<i>Glyptobothrus biguttulus</i>	4	0	6,8	0	19,2	16	2,4	0
<i>Chorthippus apricarius</i>	1,6	0,8	0	0	8	14,4	0	0
<i>Phaneroptera falcata</i>	1,6	5,6	2,8	2,4	0	0	1,2	0
<i>Chorthippus fallax</i>	0	0	1,6	0	6,4	3,2	0,8	0,8
<i>Omocestus viridulus</i>	0	0	0,8	4	4	3,2	0	0
<i>Euthystira brachyptera</i>	1,6	0	3,6	0,8	0	3,2	0,4	0
<i>Stenobothrus lineatus</i>	0	0	0	0	0	6,4	0	0
<i>Mecostethus alliaceus</i>	0	0	4,8	0,8	0	0	0	0
<i>Psophus stridulus</i>	0	0	0,8	0	4	0	0	0
<i>Tetrix bipunctata</i>	0	0,8	0,4	0	1,6	0	0,8	0
<i>Stethophyma grossum</i>	0	0	3,6	0	0	0	0	0
<i>Gomphocerus rufus</i>	0	0	0	0	0	0	0,4	3,2
<i>Conocephalus dorsalis</i>	0,8	0	0	0	0	2,4	0	0
<i>Bicolorana bicolor</i>	0	0	0	2,4	0	0	0,8	0
<i>Megaulacobothrus aethalinus</i>	0	0	0	0	0	3,2	0	0
<i>Dianemobius fascipes</i>	0	0	0	0	0	0	3,2	0
<i>Podismopsis poppiusi</i>	0	0	0	1,6	0	0	0	0
<i>Metrioptera brachyptera</i>	0	0	0	0	1,6	0	0	0
<i>Chorthippus parallelus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1,6
<i>Tettigonia cantans</i>	0	0	0	0,8	0	0	0	0
<i>Tettigonia viridissima</i>	0	0	0	0,8	0	0	0	0
<i>Locusta migratoria</i>	0	0	0,4	0	0	0	0	0
<i>Chorthippus albomarginatus</i>	0	0	0,4	0	0	0	0	0
Видовое богатство	5	3	11	8	7	8	8	3
Суммарное обилие	9,6	7,2	26	13,6	44,8	52	10	5,6

Таблица 2

Позднелетний аспект сообществ прямокрылых насекомых Катунского рекреационного района в 2016 году, экз./м²

Вид	сосново-березовые леса		долинные луга		суходольные луга		березовые леса	
	В	Н	В	Н	В	Н	В	Н
<i>Chorthippus fallax</i>	0	0	2,4	0	1,6	0,8	0,8	0,8
<i>Glyptobothrus biguttulus</i>	0	0,4	1,2	0	1,2	3,2	0	0
<i>Chorthippus apricarius</i>	0	0,4	0	0,8	1,6	2,6	0	0
<i>Phaneroptera falcata</i>	0	1,2	0,8	1,2	0	0	0,8	0
<i>Tetrix bipunctata</i>	0,8	0	2,4	0	0,8	0	0	0
<i>Mecostethus alliaceus</i>	0	0	2,4	0,8	0	0	0	0
<i>Psophus stridulus</i>	0	0	0	0	2,4	0	0	0
<i>Gomphoceris rufus</i>	0	0	0	0,4	0,8	0,4	0	0
<i>Locusta migratoria</i>	0	0	0,4	0	0	0	0	0
<i>Dianemobius fascipes</i>	0	0	0	0	0	0	0,4	0
Видовое богатство	1	3	6	4	6	4	3	1
Суммарное обилие	0,8	2	10	3,2	8,4	7	2	0,8

но увеличивают плотность короткокрылых скачок *Metrioptera brachyptera*, огневка трескучая *Psophus stridulus* и бурый конек *Chorthippus apricarius*.

С наступлением позднелетнего аспекта видовое богатство и суммарная плотность населения прямокрылых заметно снижаются (табл. 3). При этом в общих чертах сохраняется тенденция предпочтения значительной частью видов участков с более высоким уровнем рекреационной нагрузки. Наиболее четко это выражено в луговых ландшафтах, где к таким видам принадлежат восточносибирский конек *Chorthippus fallax*, короткоусый прыгунчик *Tetrix bipunctata*, зеленая болотная кобылка *Mecostethus alliaceus*, огневка трескучая *Psophus stridulus*, перелетная саранча *Locusta migratoria*. Сходная ситуация прослеживается и в березовых лесах, где обыкновенный пластинокрыл *Phaneroptera falcata* и чернополосый сверчок *Dianemobius fascipes* обнаружены только на измененных рекреационным влиянием участках. Исключением из общего вектора

выступает население долинных сосново-березовых лесов, для которого в этот период наоборот характерно снижение числа видов и общего обилия в местах рекреации.

В качестве совокупной оценки устойчивости населения прямокрылых насекомых к туристско-рекреационному воздействию проанализированы величины индексов видового разнообразия. При этом более информативны сведения о разнообразии сообществ в летний и позднелетний аспекты (табл. 3), так как ранним летом в большинстве ландшафтов обнаружено всего по одному виду прямокрылых, что соответствует нулевому разнообразию. Выявлена высокая статистически достоверная корреляция между индексами Шеннона и Симпсона ($r=0,97$), а также между этими индексами и видовым богатством сообществ ($r=0,92$ и $r=0,80$ соответственно). Это означает, что оба индекса в данной ситуации примерно одинаково отражают структурное разнообразие сообществ. Одновременно это свидетельствует об отсутствии явно выражен-

Таблица 3

Показатели видового разнообразия населения прямокрылых насекомых Катунского рекреационного участка

Индекс разнообразия	сосново-березовые леса		долинные луга		суходольные луга		березовые леса	
	В	Н	В	Н	В	Н	В	Н
летний аспект								
Индекс Шеннона	1,47**	0,68	2,03	1,89	1,62	1,80	1,83***	0,96
Индекс Симпсона	0,74***	0,37	0,84	0,82	0,75	0,80	0,80*	0,57
позднелетний аспект								
Индекс Шеннона	0	0,95	1,65	1,32	1,72**	1,14	1,06	0
Индекс Симпсона	0	0,56	0,79	0,72	0,81	0,64	0,64	0

Условные обозначения: * - статистически достоверное различие $P<0.05$, ** - $P<0.01$, *** - $P<0.001$.

ных абсолютных доминантов, численность которых бы в разы превышала прочие виды, как это бывает, например, при вспышках массового размножения вредителей [7]. В целом же основное направление изменений видового разнообразия соответствует отмеченной выше тенденции увеличения структурной сложности ортоптероидных сообществ под воздействием рекреационного фактора.

Заключение

Таким образом, сообщества прямокрылых насекомых Катунского рекреационного района реагируют на туристско-рекреационное воздействие качественными и количественными перестройками видового состава и структуры. Однако интенсивность влияния рекреационного фактора на группировки прямокрылых, по всей видимости, уступает силе таких первостепенных факторов как распашка и выпас скота, в результате действия которых могут происходить принципиальные перестройки структуры сообществ, падение видового богатства и разнообразия. В зависимости от типа ландшафта рекреационный фактор может, как способствовать увеличению широты распространения и численности отдельных видов прямокрылых насекомых, так и оказывать негативное ограничивающее действие. Локальные исчезновения или снижения численности стенотопных видов прямокрылых на рекреационных территориях, как правило, компенсируются заселением новых более антропоотолерантных элементов.

Исследование выполнено при поддержке грантом РФФИ №16-45-040158 p_a.

Список литературы

1. Кашкаров Д.Н. Среда и сообщество (основы синэкологии): курс, читанный в Среднеазиатском государственном

университете. – М.: Государственное медицинское издательство, 1933. – 243 с.

2. Малков П.Ю. Влияние рекреационного природопользования на биотопические группировки дневных бабочек (на примере Катунского рекреационного района Республики Алтай) // Международный журнал фундаментальных и прикладных исследований. – 2016. - №9. – Ч. 2. – С. 252-256.

3. Павлова К.С. Оценка геоэкологических последствий неорганизованного массового отдыха на территории Катунского рекреационного района Республики Алтай. - Автореф. канд. дисс. - Новосибирск, 2015. – 19 с.

4. Павлова К.С., Робертус Ю.В., Кивацкая А.В. Характер изменения свойств и состава почв рекреационных территорий (на примере Катунского района Республики Алтай) // Мир науки, культуры и образования. - 2013. - Вып.38. - №1. - С. 338-342.

5. Самойлов Б. Л., Морозова Г. В. Влияние рекреационного лесопользования на животных // Природные аспекты рекреационного использования леса. – М.: Наука. – 1987. – С. 36-70.

6. Сергеев М. Г. Закономерности распространения прямокрылых насекомых Северной Азии. – Новосибирск, 1986. – 238 с.

7. Сергеев М. Г. Ландшафтные типы сообществ прямокрылых насекомых и закономерности их антропогенных изменений. 1. Горы Южной Сибири // Сибирский экологический журнал. – 1999. – Т.6. – №5. – С. 501-508.

8. Сергеев М.Г. Хортобионтные членистоногие в наземных экосистемах Западно-Сибирской равнины: оценки запасов углерода // Вестник НГУ. Серия биология, клиническая медицина. – 2009. - Т.9. – Вып.4. – С. 71-74.

9. Худякова Н.Е. Прямокрылые насекомые (Orthoptera) Северного Алтая (фауна, сезонная динамика и характер распределения сообществ). - Автореф. канд. дисс. - Новосибирск, 2004. – 23 с.

10. Шитиков В.К. Использование рандомизации и бутстрепа при обработке результатов экологических наблюдений // Принципы экологии. – 2012. - Т.1. - №1. – С. 4-24.

11. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. – 2001. – №4. – 9 p. <http://folk.uio.no/ohammer/past/Past3.zip>

12. Sukhova M.G., Zhuravleva O.V., Kocheeva N.A., Minayev A.I., Karanin A.V., Bolbukh T.V., Nikolchenko Yu.N., Bakulin A.A., Roldugin V.V. The Natural climatic conditions for the economic activity in mountain areas (in the case of the Altai Republic) // Life Science Journal. – 2014. - №11. – P. 664-668.

УДК 615: 595

**НОВЫЙ ПСИХРОФИЛЬНЫЙ КАТЕПСИН L ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА
КРАСНОГО КОРОЛЕВСКОГО КРАБА (PARALITHODES
CAMTSCHATICUS)****Исаев В.А., Балашова М.В., Шагин Д., Шагина И., Еремеев Н.Л., Руденская Г.Н.***Биологический факультет Московский государственный университет Москва,
e-mail: trinita@rmt.ru*

Психрофильные и психотолерантные организмы некоторое время или постоянно живущие при низких температурах продуцируют "cold – adapted" ферменты. Известно, что около 90% биосферы существует при температурах ниже 10°C. На поверхности земли преобладают низкотемпературные условия на арктическом и антарктическом континентах, горных районах и морских водах, которые покрывают 70% этой площади и располагаются ниже 1000 м уровня моря, температура не превышает 5°C. Психрофильные организмы живут при таких низких температурах, при которых большинство других видов не может расти и для выживания они нуждаются в ферментах, способных успешно осуществлять катализ в этих экстремальных условиях. Принято считать, что отличительный признак психрофильных ферментов – более высокая активность при низких и умеренных температурах, чем у аналогичных мезофильных ферментов [1, 2]. Эффективность катализа - kcat/КМ и значительное увеличение термостабильности предположительно связаны с большей подвижностью полипептидной цепи.

Ключевые слова: катепсин L, психотолерантные организмы, коллаген**NOVEL PSYCHROTROPIC CATHEPSIN L FROM THE HEPATOPANCREAS OF
RED KING CRAB (PARALITHODES CAMTSCHATICUS)****Isaev V.A., Balashova M.V., Shagin D., Shagina I., Eremeev N.L., Rudenskaya G.N.***Department of Biology Moscow State University, Moscow, e-mail: trinita@rmt.ru*

Psychrofilny and psychotolerant organisms some time or constantly living at low temperatures produce «cold – adapted» enzymes. It is known that about 90% of the biosphere exist at temperatures below 10 °C. On the Earth's surface low-temperature conditions on the Arctic and Antarctic continents, mountainous areas and sea waters which cover 70% of this area prevail and lower than 1000 m of sea level are located, temperature doesn't exceed 5 °C. Psychrofilny organisms live at such low temperatures at which the majority of other types can't grow and for survival they need the enzymes capable to successfully perform a catalysis in these extreme conditions. It is considered to be that a distinctive sign the psychrofilnykh of enzymes – higher activity at low and moderate temperatures, than at similar mesophilic enzymes [1, 2]. Efficiency of a catalysis - kcat/KM and significant increase in thermostability are presumably connected with bigger mobility of a polypeptide chain.

Keywords: cathepsin L, psychrotrophic, collagenolytic

Членистоногие по количеству видов и распространенности могут считаться самой процветающей группой живых организмов, они обитают практически повсеместно и способны жить в экстремальных условиях. Протеиназы этих организмов являются необычными ферментами, заметно отличающимися по энзиматическим характеристикам от своих аналогов позвоночных и, особенно, млекопитающих. Многие ферменты членистоногих обладают уникальными свойствами и находят практическое применение в различных отраслях промышленности и медицине. Однако в настоящее время наиболее изучены психрофильные и психротолерантные ферменты из микроорганизмов [3,4].

Камчатский краб относится к отряду Decapoda, подотряду Anomura, семейству Lithodidae, подсемейству Uthodinae, роду Paralithodes. Этот краб – наиболее крупный из четырех промысловых видов северо-западной части Тихого океана. Обитание камчатского краба на родине приурочено

к определенным водным массам – крабы совершают вертикальные миграции. По температурному режиму воды шельфа Берингова и Охотского морей в верхней части склона делятся на 3 слоя. Это поверхностный слой со значительными сезонными колебаниями – от высоких значений летом до отрицательных зимой, слой остаточного зимнего охлаждения с постоянно отрицательными значениями (-1,2°C) и промежуточный слой с постоянно низкой, но положительной температурой (около +1,5°C) У ракообразных (крабов, раков и креветок) гепатопанкреас является органом, совмещающим функции печени и поджелудочной железы. Из-за особенностей питания отряда Decapoda гепатопанкреас секретирует большое количество пищеварительных ферментов, гидролизующих все классы природных полимеров и обладающих широкой специфичностью и необычно высокой активностью. Ранее в нашей лаборатории было выделено и изучено несколько коллагеназ *P. camtschaticus* [5-7]. Цель этого исследо-

вания – изучение нового психротрофного катепсина from *P. camtschaticus*, определение его первичной структуры и энзиматических свойств. Цистеиновые лизосомальные катепсины, принадлежащие к С1 клану, по MEROPS классификации, играют важную роль в метаболизме белка в клетке [8]. Катепсины декапод мало изучены [9], хотя они представляют несомненный интерес для фундаментальной энзимологии и прикладных исследований.

Выделение и очистка протеиназ камчатского краба

Трудности получения гомогенных эндопептидаз крабов связаны с тем, что в их гепатопанкреасе обнаруживается множество ферментов, лишь незначительно отличающихся молекулярной массой, изоэлектрической точкой, обладающих смешанной субстратной специфичностью. Ранее в нашей лаборатории был получен суммарный препарат протеиназ гепатопанкреаса камчатского краба «Морикраза», который применяется в составе мази для лечения ожогов, гнойно-трофических язв и послеоперационных рубцов.

В растворе Морикразы была обнаружена катепсиновая активность – гидролиз хромогенного субстрата Z-Ala-Phe-Arg-pNA [10] и частичное ингибирование этой активности при преинкубации препарата с раствором $HgCl_2$. Активность по хромогенному субстрату усиливалась в присутствии цистеина и сохранялась при pH=5. Это дало основание полагать, что в Морикразе присутствует цистеиновая протеиназа катепсин. Для выделения фермента на первом этапе была проведена анионообменная хроматография на DEAE-Toyorearl в градиенте NaCl. После проведения ионообменной хроматографии, фракции, обладающие активностью по ZD-Ala-Phe-Arg-pNA и ингибирующиеся Hg^{2+} , были собраны, сконцентрированы методом ультрафильтрации и нанесены на сефадексе G-50 fine. Пик, обладающий искомой активностью, был сконцентрирован методом ультрафильтрации и исследован методом SDS-электрофореза в ПААГ.

В итоге была достигнута степень очистки в 582 раза. Выход по активности составил 8,23%, однако результат может быть заниженным, так как многие протеиназы, содержащиеся в исходном материале, активны по субстрату ZD-Ala-Phe-Arg-pNA (в особенности мажорная сериновая протеиназа PC1 и трипсин).

Для того чтобы удостовериться в гомогенности полученной катепсиновой фракции, на SDS-электрофорез было нанесено

избыточное количество белка (рис. 1). Видно, что присутствующая примесь незначительна, возможно это остаток неактивированного профермента.

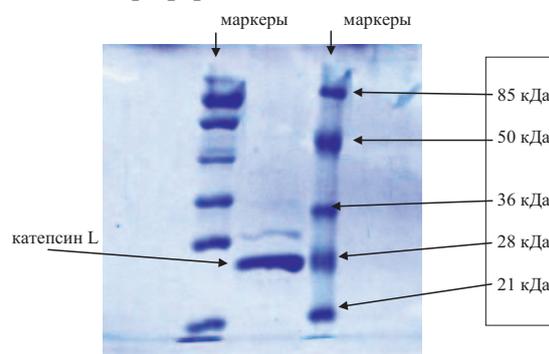


Рис. 1. Аминокислотная последовательность катепсина L из гепатопанкреаса of Red King Crab (*P. camtschaticus*)

Далее был получен и секвенирован полноразмерный ген катепсина L камчатского краба. Нуклеотидная последовательность была транслирована в аминокислотную последовательность профермента (рис. 2).

```

DDTLPAEVDWRTKGA VTPVKDQKACGSCWAFSATGSLGQHFLKDGKLVLSLSE
QNLVDCSTKQGDHGCCGGLMDFAFYIKDNGGIDTEASYPYEATDGKCYNPANSG
ATVTGYVDVEHDS DALQKAVATIGPISVAIDASRSTFHFYHKGYVDKCCSSTLSDH
GVLAVGYGTQDGTDYWLVLKNSWNITWGNHGFIEMSRNRNRCGIATQASYPLV
DDTLPAEVDWRTKGA VTPVKDQKACGSCWAFSATGSLGQHFLKDGKLVLSLSE
QNLVDCSTKQGDHGCCGGLMDFAFYIKDNGGIDTEASYPYEATDGKCYNPANSG
ATVTGYVDVEHDS DALQKAVATIGPISVAIDASRSTFHFYHKGYVDKCCSSTLSDH
GVLAVGYGTQDGTDYWLVLKNSWNITWGNHGFIEMSRNRNRCGIATQASYPLV

```

Рис. 2. SDS-PAGE катепсина L PC. Электрофорез образцов в 12% полиакриламидном геле, где: (1) полоса фракции очищенного фермента соответствует 28 kDa (катепсин L). Полоса, соответствующая 32 kDa, принадлежит проэнзиму. (2) стандарты (85-21 kDa, Fermentas SM-0441)

Анализ кДНК гена и транслированной аминокислотной последовательности показал, что профермент содержит 324 аминокислотных остатка, рассчитанная молекулярная масса 35,4 кДа; pI = 4,88.

Известно, что катепсины L как прокариот, так и эукариот, содержат высококонсервативную лидерную последовательность (16-18 аминокислотных остатков), за которой следует про-последовательность (60-100 аминокислотных остатков).

Лидерная последовательность состоит преимущественно из гидрофобных аминокислотных остатков, что облегчает транспорт катепсина по секреторному пути. Про-последовательность необходима для корректного фолдинга белка, временного ингибирования протеазной активности и транспорта неактивного профермента в эндосомы. В данном случае, аминокислотная

последовательность начинается с метионина, который впоследствии отщепляется. Лидерная последовательность выражена слабо, скорее всего, она представлена 19 аминокислотными остатками и заканчивается на Thr19. Это наиболее вариабельный участок последовательности.

На основе сравнения с известными катепсинами других членистоногих было предположено место расщепления пропоследовательности для получения зрелого фермента (обозначено красной стрелкой). Обычно, при созревании катепсина L у членистоногих, расщепление происходит вблизи участка высокой консервативности DWR. Более того, в участке P2' преимущественно находится Pro, реже – другая гидрофобная аминокислота (например, Ala). Зрелая форма исследуемого катепсина камчатского краба содержит предположительно 220 аминокислотных остатков, рассчитанная молекулярная масса составляет 23,78 кДа. Согласно SDS-электрофорезу в ПААГ молекулярная масса катепсина составляет 29 кДа, однако, следует учитывать, что на электрофорезе значения масс обычно бывают завышенными. Низкая изоэлектрическая точка, pI=4,82, является характерной чертой большинства ферментов членистоногих.

Для выявления особенностей в первичной структуре исследуемого катепсина, было выполнено сравнение его аминокислотной последовательности с аминокислотными последовательностями катепсинов других членистоногих (Рис. 3).

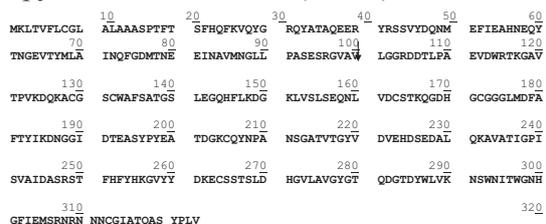


Рис. 3. MALDI-MS анализ

Из приведенных данных видно, что исследуемый катепсин проявляет высокую степень сходства аминокислотной последовательности с катепсинами L других членистоногих (95-97% сходства). В целом, N-конец более вариабельный, С-конец более консервативный. Интересно, что С-концевые 5 аминокислотных остатка SYPLV присутствуют у подавляющего большинства представителей цистеиновых катепсинов членистоногих. Исследуемая аминокислотная последовательность содержит консервативный мотив GCNGG, характерный для большинства цистеино-

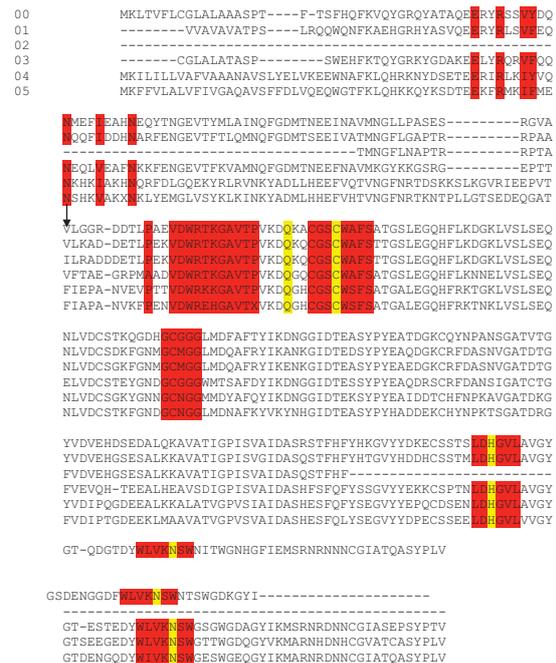


Рис. 4. Сравнение первичной структуры катепсинов L из различных Decapoda. Высококонсервативный район отмечен красным, аминокислотные остатки, которые образуют активный центр – желтым, Cys образующий дисульфидные связи – in голубым. Сайт расщепления про-энзима указан стрелкой.

00 – kamencin L из Red King Crab (*Paralithodes camtchatica*); 01 – kamencin L из cathepsin L from Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*); 02 – kamencin L из cathepsin L from Giant Tiger Prawn (*Penaeus monodon*); 03 – kamencin L из kamencin L из cathepsin L from Norway lobster (*Nephrops norvegicus*); 04 – kamencin L из – kamencin L из cathepsin L from African mosquito (*Culex aegypti*); 05 – kamencin L из cathepsin L from dermestid beetle (*Dermestes frischii*)

вых протеиназ. В нашем случае, Asn заменен на Gly. Это, вероятно, связано с психротрофностью фермента и увеличивает его лабильность. Катепсин L камчатского краба содержит мотив ERFNIN (EX3RX2(V/I)FX2NX3IX3N), характерный для всех представителей подсемейства катепсинов L. Однако Phe заменен на Tyr. Каталитический Cys окружен участком высокой консервативности. Шесть высококонсервативных остатков Cys, формирующих дисульфидные связи в папаине в позициях 22-65, 56-98, 157-207, присутствуют и в исследуемом катепсине. Общее низкое содержание Arg (4% от всех аминокислот) и отсутствие явных гидрофобных кластеров свидетельствует об адаптации катепсина L камчатского краба к работе при низких температурах (психротрофность). Третичная структура (рис. 5)

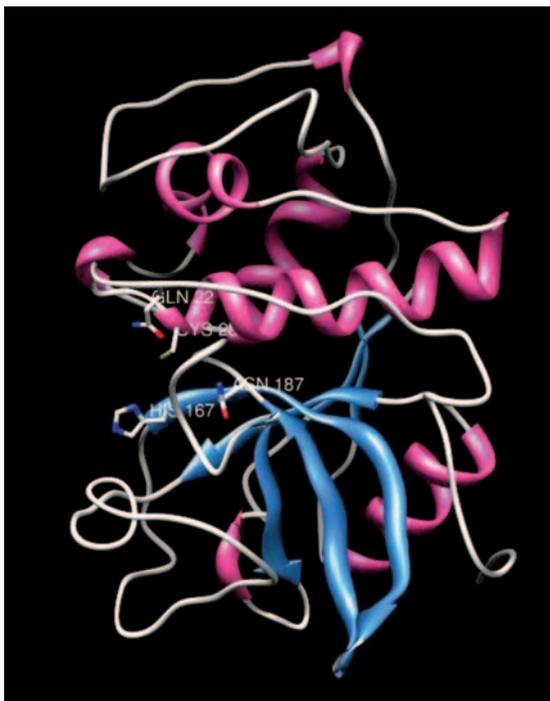


Рис. 5. Модель третичной структуры катепсина L PC. Розовым отмечены α -спирали, синим – β -слои, белым – петли. Активный центр в красном квадрате

представляет собой две цепи – тяжелая и легкая, связанные дисульфидными и водородными связями. Между цепями находится активный центр фермента и субстрат-связывающий участок. N-концевой домен образован 3 α -спиралями, C-концевой домен образован 1 α -спиралью и 4 β -листами. Такая организация вторичной структуры является типичной для цистеиновых катепсинов. Относительно большое количество петельных структур на поверхности белковой глобулы является характерной особенностью строения психротрофных ферментов. β -листы находятся, в основном, внутри глобулы и в районе субстрат-связывающего участка. На рис. 6 розовым цветом обозначены α -спиральные участки, синим – β -листы, белым – петли. Красным прямоугольником выделен активный центр фермента (аминокислотные остатки Gln22, Cys28, His167, Asn187). N-концевой домен образован тремя α -спиралями, C-концевой домен образован 1 α -спиралью и 4 β -листами. Такая организация вторичной структуры является типичной для цистеиновых катепсинов. Относительно большое количество петельных структур на поверхности белковой глобулы является характерной особенностью строения психротрофных ферментов. β -листы находятся, в основном, внутри глобулы и в районе субстрат-связывающего участка.

Методом MALDI-MS было показано 100% соответствие первичной структуры выделенного катепсина, определенной по кДНК.

Рис.6. MALDI-MS анализы

Цветом обозначены идентичные участки сравниваемых последовательностей. Гидролиз трипсином (90.9% идентичности); Гидролиз глутамилэндопептидазой (81.4% идентичности):

Так как катепсины, в основном, являются лизосомальными ферментами, то обычно они активны при кислых pH. Так, для катепсина L из жука-кожееда pH оптимум составляет 4,5; для катепсина L из тихоокеанской белой креветки - 5; большинство катепсинов L млекопитающих обладают наибольшей активностью при pH = 5,5.

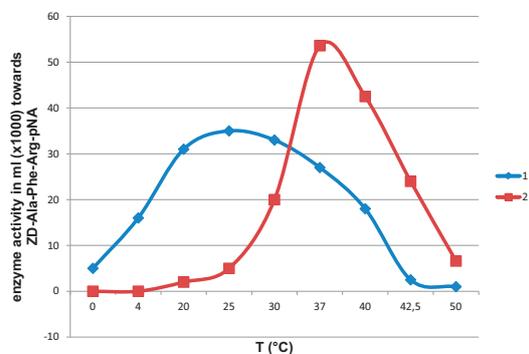


Рис. 6. Температурный оптимум. Активность фермента измерена по субстрату Z-Ala-Phe-Arg-pNA. 1 – катепсин L из краба *P. camtschaticus*; 2 – катепсин L из жука *Dermestes frisii*

Однако исследуемый катепсин камчатского краба показал наибольшую ферментативную активность по хромогенному субстрату ZD-Ala-Phe-Arg-pNA при слабощелочных условиях, с оптимумом pH = 8,0. При этом, катепсин L камчатского краба также сохраняет активность при кислых pH. Исходя из этих данных, можно предположить, что исследуемый катепсин является секретлируемым белком, а не лизосомальным. Температурный оптимум катепсина камчатского краба находится при 25 °C (рис.6). Однако, было обнаружено, что фермент способен гидролизовать хромогенный субстрат при температуре ниже 20 °C, и даже при 0 °C. Это позволяет отнести исследуемый фермент к психротрофным. При повышении температуры до 50-60 °C происходит резкое падение активности. Если провести 30-минутную пре-инкубацию фермента при 60 °C и только потом добавить субстрат, то активность падает до 0. Это говорит о тепловой денатурации катеп-

Таблица 1

Выделение катепсина камчатского краба

этапы очистки	количество белка (мг)	Общая активность	Активность в мл по ZD-Ala-Phe-Arg-pNa (мМ/мин·мл)	Удельная активность в мл (мМ/мин·мг белка)	Степень очистки
исходный материал	800	1312	262,4	1,6	1
DEAE-ToyoPearl	5	97	64,6	19,4	12
G-50 fine	0,116	108	39,3	931	582

сина при данной температуре. Также в ходе работы было замечено, что исследуемый катепсин быстро теряет свою каталитическую активность при температуре выше 35 °С (падение удельной активности ~ на 25% за 4 часа нахождения при температуре 37 °С).

Сравнение с катепсином L жука выделенным из *Dermestes frischii* Т оптимум которого находится при 37°С, показало, что температурах меньше 10°С фермент жука не активен, при 42°С, в отличие от катепсина краба, сохраняет 24% активности.

Субстратная специфичность

Из таблицы 2 видно, что исследуемый катепсин обладает амидазной активностью и эффективно гидролизует синтетические хромогенные субстраты. С наибольшей эффективностью расщепляется синтетический субстрат ZD-Ala-Phe-Arg-pNA. № 2-6 являются стандартными субстратами для

сериновых и трипсиноподобных протеиназ, как видно, некоторые из них (№ 2, 3) исследуемый катепсин хорошо гидролизует, другие (№ 4, 6) практически не гидролизует. Arg в положении P1 является важным фактором гидролиза субстрата данным ферментом. При сравнении активности катепсина по субстратам № 2 и 3, видно, что замена Arg на Lys в положении P1 уменьшает уровень гидролиза на 27%. Субстрат трипсина (BZ-Arg-pNA) исследуемым катепсином практически не гидролизует, несмотря на наличие Arg в положении P1. № 13, 14 являются классическими субстратами папаина и бромелаина. Для исследуемого катепсина, по всей видимости, эти субстраты являются слишком короткими для эффективного связывания, поэтому их гидролиз идет на низком уровне. Нахождение Leu вместо Ala в положении P1 в субстрате № 14 сильно снижает степень гидролиза. Также практически

Таблица 2

Действие катепсина L PC на синтетические субстраты. Все исследования были проведены при pH=8,0, 25 °С, в присутствии 5mM Cys

Cleavage site	Organism	Supposed/ proved
104 R-DDTLPAEVDWRTK	<i>Paralithodes camtschaticus</i>	Proved on the basis of N-terminal sequence
83-TLPEKVDWTKG	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Proved on the basis of N-terminal sequence ¹¹
106-MAADVWRNK	<i>Pandalus borealis</i>	Proved on the basis of N-terminal sequence ¹²
121-KFPENVDWREH	<i>Dermestes frischii</i>	Suggested ¹³
118-QLPGQIDWRDK	<i>Tenebrio molitor</i>	Proved on the basis of N-terminal sequence ¹⁴
115-KLPAKVDWRQK	<i>Triatoma infestans</i>	suggested ¹⁵
120-KLPDVTWDRDK	<i>Sitophilus zeamais</i>	Suggested ¹⁶
113-SWPWSKKVDWRSK	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Suggested ¹⁷
116-ADPNVQAVEVDWRDS	<i>Diabrotica virgifera</i>	Proved on the basis of N-terminal sequence ¹⁸
123-VIPSKVDWREK	<i>Aphis gossypii</i>	suggested ¹⁹
126-TLAASIDWRTK	<i>Tetrahymena</i>	Proved on the basis of N-terminal sequence ²⁰

не гидролизуются субстраты эластаз (№ 18) и пролиновых эндопептидаз (№ 19).

Для изучения особенностей гидролиза пептидных связей был проведен гидролиз полученным катепсином физиологически активных пептидов известного строения – мелиттина, А и В цепей инсулина. Рис 7а.

Стрелками обозначены места гидролиза пептидов исследуемым катепсином. Красными стрелкам выделены места, наиболее предпочтительные для гидролиза.

Из приведенных данных видно, что исследуемый катепсин обладает широкой субстратной специфичностью. В положении P1 предпочитает полярные, положительно заряженные аминокислотные остатки, особенно Arg. Чуть менее интенсивно идет гидролиз, если Arg в P1 заменить на Lys. Однако, если в положении P1 находится His, то гидролиз не идет. Также, для активного гидролиза субстратов исследуемым катепсином важно, чтобы в положении P2 находились гидрофобные аминокислотные остатки, что характерно для цистеиновых протеиназ. Предпочтительно, чтобы положение P2 занимали Leu, Val, Ile Phe. Менее интенсивно катепсин расщепляет пептиды

когда в положении P2 находится Thr или Ala. Удивительно, что в отличие от своих аналогов у других организмов (например, катепсины L из жука-кожееда и тихоокеанской белой креветки) исследуемый катепсин может гидролизовать субстраты с Asp в положении P2. В нативных пептидных субстратах возможен гидролиз после полярных незаряженных аминокислотных остатков в положении P1: Thr, Tyr, Ser. Также было установлено, что данный фермент не гидролизует небольшие пептиды. Это, скорее всего, связано с особенностями строения субстрат-связывающей впадины: из-за отсутствия “запирающей петли” исследуемый катепсин не проявляет экзопептидазную активность. Продолговатая форма субстрат-связывающей впадины, образованной, в основном, незаряженными аминокислотными остатками не способствует эффективному связыванию небольших пептидов.

Общая коллагенетическая активность исследуемого катепсина была проверена в постепени гидролиза азоколлагена. Удельная активность по азоколлагену составляет 3,25 М/мин/мг белка. Далее был проведен гидролиз коллагена в течение 2 и 4 часов

Таблица 3

Гидролиз синтетических хромогенных субстратов.

№	Субстрат	активность в мл (мМ/(мин · мл))	Удельная акт. (мМ/(мин · мг белка))	относительная акт. (в % относительно субстрата ZD-Ala-Phe-Arg-pNA)
1	ZD-Ala-Phe-Arg-pNA	39,3	802	100
2	Ac-Leu-Leu-Arg-pNA	25,0	511	64
3	Ac-Leu-Leu-Lys-pNA	18,6	380	47
4	D-Val-Leu-Lys-pNA	0,2	5	1
5	ZD-Ala-Leu-Arg-pNA	11,1	226	28
6	Gly-Arg-pNA	2,3	46	6
7	BZ-Arg-pNA	0,4	08	1
8	Glp-Ala-Ala-Leu-pNA	4,0	82	10
9	ZD-Ala-Asp-Ala-pNA	15,7	320	40
10	ZD-Ala-Glu-Ala-pNA	2,6	54	7
11	ZD-Ala-Ala-Phe-pNA	0,4	8	1
12	ZD-Gly-Gly-Leu-pNA	0,0	1	0
13	Glp-Phe-Ala-pNA	9,3	191	24
14	Glp-Phe-Leu-pNA	0,8	17	2
15	ZD-Ala-Ala-Phe-Asp-pNA	2,6	52	6
16	ZD-Ala-Ala-Met-Asp-pNA	0,9	17	2
17	ZD-Glu-pNA	0,2	5	1
18	Ac-Ala-Ala-Ala-pNA	2,1	43	5
19	ZD-Ala-Ala-Pro-pNA	0,3	5	1

Таблица 3

Действие ингибиторов на катепсин L PC. Активность определяли по синтетическому субстрату ZD-Ala-Phe-Arg-pNA. При t pH=8,0, 25 °C. Преинкубация 60 min

	катепсин камчатского краба			катепсин жука		
T, °C	4	23	37	4	23	37
Km, mM	0,043	0,033	0,16	0	0,12	0,050
tm, mM/c	4,9	0,13	0,74	0	0,98	0,68
kcat, 1/c	26	0,69	3,9	0	5,2	3,6
kcat/Km, л/ммоль/с	605	21	25	0	42	72

расчёт по методу Лайнуивера-Бёрка

при комнатной температуре. Результаты приведены на SDS электрофорезе в ПААГ (рис. 7). Из приведенных данных видно, что исследуемый катепсин обладает коллагенолитической активностью. Коллаген X типа гидролизует несколько быстрее, чем коллаген VI типа. В обоих случаях первые признаки гидролиза заметны уже через 2 часа инкубации фермента с коллагеном, причем в первую очередь расщеплению подвергаются β-цепи. После 4 часов инкубации катепсина с коллагеном VI типа α и β цепи полностью гидролизованы и коротких пептидов на электрофореграмме не видно. В случае коллагена X типа, за 4 часа происходит полный гидролиз всех трех видов цепей.

Гидролиз мелиттина



Гидролиз А-цепи инсулина



Гидролиз В-цепи инсулина



Рис. 7. Сайты расщепления природных пептидов катепсином L PC. Красные стрелки показывают главные позиции гидролиза, черными стрелками показаны отдельные сайты расщепления

Таблица 3. Сравнение кинетических параметров исследуемого катепсина с катепсином L из жука-кожееда по субстрату Z-Ala-Phe-Arg-pNA. Из приведенных в таблице 3 данных видно, что исследуемый катепсин из краба показывает относительно высокое сродство к синтетическому хромогенному субстрату Z-Ala-Phe-Arg-pNA. Эффективность катализа исследуемого

катепсина при температурах выше +20°C сравнима с таковой термофильного катепсина L из жука-кожееда. Заметные отличия наблюдаются при температурах +4 °C: в то время как фермент из жука-кожееда не проявляет протеолитической активности, фермент из краба демонстрирует высокую эффективность катализа – на порядок выше, чем при температурах выше +20 °C.

Ингибиторный анализ

Таблица 4

Действие ингибиторов на катепсин L камчатского краба

№	Ингибитор	A ₄₁₀	Остаточная акт. (мМ/мин·мл)	% ингибирования
1	HgCl ₂	0	0	100
2	E-64	0.049	0,99	82
6	Лейпептин	0.056	1,1	80
3	Йодацетамид	0,069	1,38	75
5	PMSF	0.091	1,8	67
7	Соевый ингибитор трипсина	0.231	4,6	16
8	Эндогенный ингибитор сериновых протеиназ из гепатопанкреаса камчатского краба	0.216	4,3	21
	Контроль	0.275	5,5	

Таблица 4 Действие ингибиторов на катепсин L камчатского краба Исследуемый фермент полностью ингибируется хлоридом ртути, специфическим ингибитором цистеиновых протеиназ. Катионы ртути могут конкурентно необратимо связываться с цистеином активного центра. 82% ингибирование исследуемой протеиназы E-64 и 80% ингибирование лейпептином

Таблица 5

Объект	M (кДа)	pI	T оптимум (°C)	pH оптимум
Камчатский краб (<i>Paralithodes camtschatica</i>)	23,78	4,82	25	8,0
Тихоокеанская белая креветка (<i>Litopenaeus vannamei</i> ¹)	31,5	4,63	-	5,1
Северная креветка (<i>Pandalus borealis</i>)	29	-	40	6,0
Омар американский (<i>Homarus americanus</i> ²)	28	4,8	25	4,5
Клоп триатомовый (<i>Triatoma infestans</i>)	23	4,7	37	5,5
Жук-кожед (<i>Dermestes frischii</i>)	24	4,7	40	4,5
Мучной хрущак (<i>Tenebrio molitor</i>)	30	4,3	47	5,0

лишний раз подтверждает принадлежность фермента к семейству папаиноподобных катепсинов. Чуть хуже на данный фермент действует йодацетамид – достигается 75% ингибирования активности. Соевый ингибитор трипсина практически не подавлял активность катепсина (16% ингибирование). Более того, эндогенный ингибитор сериновых протеиназ из гепатопанкреаса камчатского краба снижал катепсиновую активность только на 21%. В целом, полученный профиль ингибирования является характерным для катепсинов L.

Таблица 5 Сравнение молекулярных и ферментативных свойств катепсинов L некоторых членистоногих.

В настоящее время сведения о катепсинах ракообразных очень скудные. Как видно из Таблицы 5, энзиматические свойства катепсинов L хорошо изучены не у всех видов членистоногих. В отличие от многих катепсинов L, катепсин камчатского краба обладает аномально щелочным оптимумом pH. Более того, заметен низкий температурный оптимум, идентичный температурному оптимуму катепсина L из американского омара, но гораздо ниже чем у обитающей в сходных температурных условиях северной креветки. pI и молекулярная масса исследуемого фермента лежат в стандартном диапазоне.

Таким образом, на основании проведенных исследований катепсин из гепатопанкреаса Red King Crab (*Paralithodes camtschaticus*) можно классифицировать как цистеиновую протеиназу клана SA, семейства C1, субсемейства A. Фермент обладает психрофильными свойствами и может эффективно гидролизовать коллаген.

Список литературы

1. G.Gianese, P.Argos & S.Pascarella, Structural adaptation of enzymes to low temperatures, 2002, 14: 141-148

2. J.Gomes, W.Steiner, "The Biocfflytic Pjntial of Extremophiles and Extremophiles" Food Technol. Biothechnol., 2004, 42,(4),223-239

3. M.Kuddus, P.W.Ramiecke, "Recent developments in production and biothechnological applications of cold-active microbial proteases", Crit.Rev.Microbiol. 2012, 38, 330-338

4. M.Fombacke, M.Clarsund, "Cold-adapted Proteases as an Emerging Class of Therapeutics", Infect. Dis.Ther., 2013 2 (1), 15-26

5. A.M.Shmoilov, G.N.Rudenskaya, V.A.Isaev, A.V.Baydakov, R.D.Zhantiev, O.S.Korsunovskaya, L.V.Ageeva, N.V.Starikova, A comparative study of collagenase complex and new homogeneous collagenase preparations for scar treatment. Journal of drug delivery science and technology, 2006, 16: 285-292

6. G.N.Rudenskaya, Y.A.Kislitsin, D.V. Rebrikov, Collagenolytic serine protease PC and trypsin PC from king crab *Paralithodes camtschaticus*: cDNA cloning and primary structure of the enzymes, BMC Structural Biology, 2004, 2: 20-24

7. A.I.Papisova, S.A.Semenova, Y.A.Kislitsyn, G.N.Rudenskaia, Characteristics of substrate hydrolysis by endopeptidases from the hepatopancreas of the king crab, Bioorg Khim (Mosc), 2008, 34-4: 479-86

8. M.E.McGrath, The lysosomal cysteine proteases, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 1999, 28: 181-204

9. Aoki H., Ahsan M.N., Watabe S., "Molecular cloning and functional characterization of crustapain: a distinct cysteine proteinase with unique substrate specificity from northern shrimp *Pandalus borealis*", 2003, J Biochem., 133(6): 799-810

10. I.B.Leshchinskaya, E.V.Shakirov, E.L.Itskovitch, N.P.Balaban, A.M.Mardanov, M.R.Sharipova, E.V.Blagova, V.M.Levdikov, I.P.Kuranova, G.N.Rudenskaya, V.M.Stepanov, Glutamyl endopeptidase of *Bacillus intermedius* strain 3-19. Purification, properties, and crystallization, Biochemistry (Mosc), 1997, 62: 903-908

11. L.T. Voyushina, E.Yu. Terent'eva, V.M. Stepanov, The synthesis of chromogenic peptide substrates containing p-nitroanilides of arginine and lysine, catalyzed by proteinases adsorbed on support material, Biomed. Biochim. Acta. 1991, 50: 209-212

12. B.F.Erlanger, N.Kokowsky, W.Cohen, The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin, Arch. Biochem. Biophys. 1961, 95: 271-288

13. R. Jr. Chavira, T.J. Burnett, J.H. Hageman, Assaying proteinases with azocollagene, Anal Biochem. 1984, 136: 446-450

14. H.Kirschke, A.A.Kembhavi, P.Bohley and A.J.Barrett, Action of rat liver cathepsin L on collagen and other substrates, Biochem J. 1982, 201-2: 367-72

15. S. Al-Jassabi, Purification and characterization of cathepsin L from skeletal muscle of the lizard *Agama stellio stellio*, Biochemistry (Mosc), 200, 65-8: 959-62

-
16. Boulay C., Van Wormhoudt A., Sellos D., "Cloning and expression of cathepsin L-like proteinases in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus vannamei* during the intermolt cycle", 1996, *J Comp Physiol B*, 1996,166(5): 310-318
17. Papisova A.I., Javadov A.S., Rudenskaya Yu. A., Balandina G.N., Zhantiev R.D., Korsunovskaia O.S., Dunaevsky Y.E., Rudenskaya G.N. "Novel cathepsin L-like protease from dermestid beetle *Dermestes frischii* maggot", *Biochimie*, 2011, 93 (2): 141-148
18. Cristofolletti P.T., Ribeiro A.F., Terra W.R., "The cathepsin L-like proteinases from the midgut of *Tenebrio molitor* larvae: sequence, properties, immunocytochemical localization and function", *Insect Biochem Mol Biol.*, 2005, 35(8): 883-901
19. Kollien A.H., Waniek P.J., Nisbet A.J., Billingsley P.F., Schaub G.A., "Activity and sequence characterization of two cysteine proteases in the digestive tract of the reduviid bug *Triatoma infestans*", *Insect Mol Biol.*, 2004,13(6): 569-79
20. Matsumoto I., Abe K., Arai S., Emori Y., "Functional expression and enzymatic properties of two *Sitophilus zeamais* cysteine proteinases showing different autolytic processing profiles in vitro", *J Biochem.*, 1998, 123(4): 693-700
21. Kuipers A.G., Jongsma M.A., "Isolation and molecular characterization of cathepsin L-like cysteine protease cDNAs from western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*)", *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.*, 2004, 139(1): 65-75
22. Bown D.P., Wilkinson H.S., Jongsma M.A., Gatehouse J.A., "Characterisation of cysteine proteinases responsible for digestive proteolysis in guts of larval western corn rootworm (*Diabrotica virgifera*) by expression in the yeast *Pichia pastoris*", *Insect Biochem Mol Biol.*, 2004, 34(4): 305-320
23. Deraison C., Darboux I., Duportets L., Gorojankina T., Rahbé Y., Jouanin L., "Cloning and characterization of a gut-specific cathepsin L from the aphid *Aphis gossypii*", *Insect Mol Biol.*, 2004, 13(2): 165-177
24. Laycock M.V., MacKay R.M., Di Fruscio M., Gallant J.W., "Molecular cloning of three cDNAs that encode cysteine proteinases in the digestive gland of the American lobster (*Homarus americanus*)", *FEBS Let.*, 1991, 292(2): 115-20
25. Kerrer K.M., Peiffer S.L., DiTomas M.E. "Two distinct gene subfamilies within the family of cysteine protease genes", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90: 3063-3067
26. E.Lindskog, I.Svensson, L.Häggström, A homologue of cathepsin L identified in conditioned medium from Sf9 insect cells, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006, 71: 444-449
-