

**ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА  
И МОРФОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ**

УДК 591.543.42+612.5

**А. К. Ахременко<sup>1</sup>, Р. Х. Зиганшин<sup>2</sup>, Ю. М. Кокоз<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН «Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН», Якутск

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт биоорганической химии РАН им. академиков М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова», Москва

<sup>3</sup> ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН»,  
Пушино-на-Оке  
E-mail: bio@ibpc.ysn.ru

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФРАКЦИИ 1-10 кДа  
ИЗ МОЗГА БУРОГО МЕДВЕДЯ (URSUS ARCTOS)**

**Ключевые слова:** бурый медведь, головной мозг, пептидная фракция, температура тела, электроэнцефалография, кардиомиоциты, кальциевый ток.

*Тестировали пептидную фракцию 1-10 кДа из мозга бурого медведя. Установлено, что по характеру её влияния на реципиентов бурый медведь значительно отличается от классического зимоспящего (якутский длиннохвостый суслик).*

**A. Akhremenko<sup>1</sup>, R. Ziganshin<sup>2</sup>, U. Kokoz<sup>3</sup>**

FSBIS "Institute of Biological Problems of Cryolithozone of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (SB RAS)", Yakutsk

<sup>2</sup>FSBIS "Institute of Bioorganic Chemicals of RAS named after Academicians M. Shemyakin and Yu. Ovchinnikov", Moscow

<sup>3</sup>FSBIS "Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of RAS", Pushchino-on-Oka

**RESEARCH OF THE PHYSIOLOGICAL ACTIVITY OF BROWN BEAR'S  
(URSUS ARCTOS) 1-10 kDa BRAIN FRACTION**

**Key words:** ursus arctos, brain, peptide fraction, body temperature, electrocortigraphy, cardiomyocytes, calcium current.

*1-10 kDa peptide fraction of the brown bear's brain was tested. It has been established that by the influence of the fraction on recipients the brown bear differs significantly from other hibernators (e.g. Arctic ground squirrel).*

**Введение.** Возможность достижения устойчивого состояния гипобриоза у человека может быть решена на пути поиска и применения природных биорегуляторов.

Неудивительно, что ещё в 30-е годы прошлого столетия делались попытки выделения биологически активных веществ из тканей зимоспящих [13,17, 18]. Было показано, что введение экстрактов из бурой жировой ткани (БЖТ), лимфатических узлов и мозга, полученных из тканей находящихся в зимней спячке хомячков, ежей и летучих мышей, индуцировало сноподобные состояния у кошек и собак. У белых крыс после короткого периода беспокойства развивалась апатия и вялость, основной обмен снижался на 20-30%. У кроликов отмечалось понижение кровяного давления и сокращение частоты сердцебиения.

К середине 90-х годов только в России было выделено более 30 пептидов. Из них 5 оказались биологически активными [19], в том числе и октадекапептид из мозга якутской лошади.

В связи с тем, что факторы, выделяемые из тканей зимоспящих, уже в силу своей природы могут оказаться не столь эффективными, представляет интерес поиск регуляторных пептидов из тканей медведей. Температура тела бурых медведей в состоянии зимнего сна не опускается ниже 29°C [9]. Поэтому можно сократить время для получения активных препаратов, которые длительное время не теряют свою эффективность при введении их нормотермам.

Цель исследования заключалась в определении активности пептидной фракции из мозга бурого медведя в сравнении с активностью аналогичной фракции из тканей копытных и якутского суслика.

#### Материал и методы исследований.

Бурого медведя (4 экземпляра) добывали в феврале на берлоге. На месте ткань мозга кипятили в 1-молярной уксусной кислоте. Дальнейшую обработку проводили в лабораторных условиях по схеме (рис. 1).

Тестируемые фракции растворяли в бидистиллированной воде непосредственно перед введением и в различных дозах вводили внутривентриально или интраназально. Тестирование осуществляли на белых беспородных мышях двух групп: первая группа содержалась в стандартных условиях вивария (18-20°C) Института биофизики клетки РАН (Пущино), а вторая (холодоадаптированные мыши) в виварии (5-10°C) ИБПК СО РАН. В опыт брались 5-7 особи.

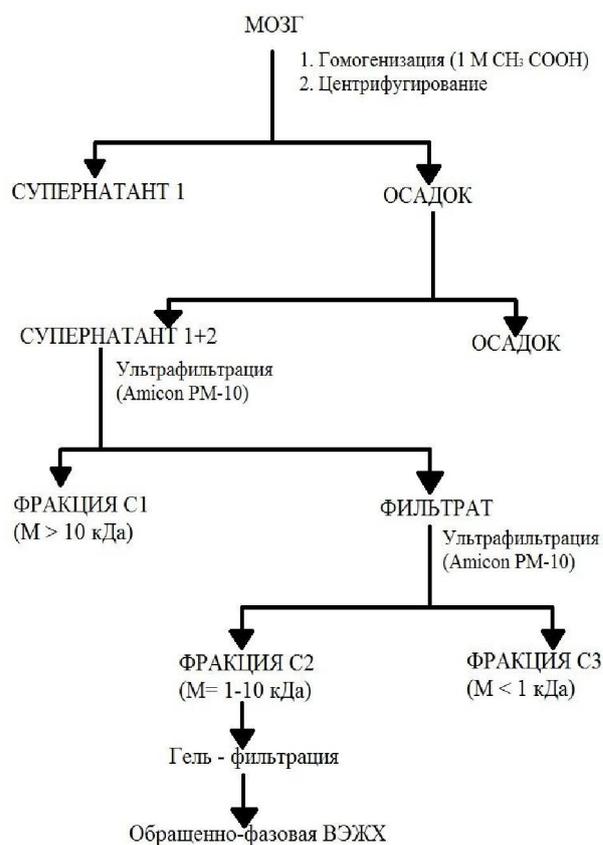


Рисунок 1 – Схема получения экстракта из мозга и ступени фракционирования [5]

Температуру тела мышей измеряли введением датчика электротермометра ТЭМП-1 на глубину 3 см в ободочную кишку.

Потребление кислорода измеряли в открытой системе [3].

Экспериментальных животных вводили в состояние гипотермии в гипоксигиперкапнической среде [7].

Изолированные перфорированные кардиомиоциты получали из миокарда крыс Wistar. В экспериментах по регуляции эндогенными пептидами потенциал-

зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов использовался пакет программ «BioQuest» [1]. Для контроля качества кардиомиоцитов были привлечены методы электронной и световой микроскопии, регистрации внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  с использованием флуоресцентного зонда QUIN 2-AM, а также измерение потенциалов покоя и потенциалов действия полученных клеток [8].

Электроэнцефалографическое (ЭЭГ) тестирование фракции 1-10 кДа подробно описано в работе [6].

**Результаты исследования и их обсуждение.** Был выполнен сравнительный анализ активности пептидной фракции из мозга ряда животных. Сравнивали гипотермическое и гипометаболическое действие фракции 1-10 кДа из мозга якутской лошади, северного оленя, лося, снежного барана и бурого медведя (рис. 2). Из названных видов наиболее мощный эффект продемонстрировала фракция из мозга бурого медведя. Температура тела мышей после введения фракции снижалась на  $8^{\circ}C$ , тогда как введение аналогичной фракции из мозга якутской лошади на  $2,3^{\circ}C$ . Процесс снижения температуры регистрировался в течение 30-70 минут. Мыши длительное время оставались в состоянии гипотермии. Возврат к нормотермии произошел примерно через сутки.

Гипометаболический эффект от введения фракции медведя был также более длительным и глубоким. Снижение метаболизма мышей достигало 70% от первоначального уровня, в то время как при инъекции фракции из мозга якутской лошади на 46%. опыты проводились на холодоадаптированных мышах.

Из литературных источников [14, 16] известно, что у черного медведя в состоянии зимнего сна температура тела снижается на  $4-5^{\circ}C$ , а метаболизм не более чем на 50-60%.

Ввиду отсутствия данных об уровне обмена веществ в зимний период у бурого медведя по аналогии предполагаем, что у него уровень метаболизма находится в этих же пределах.

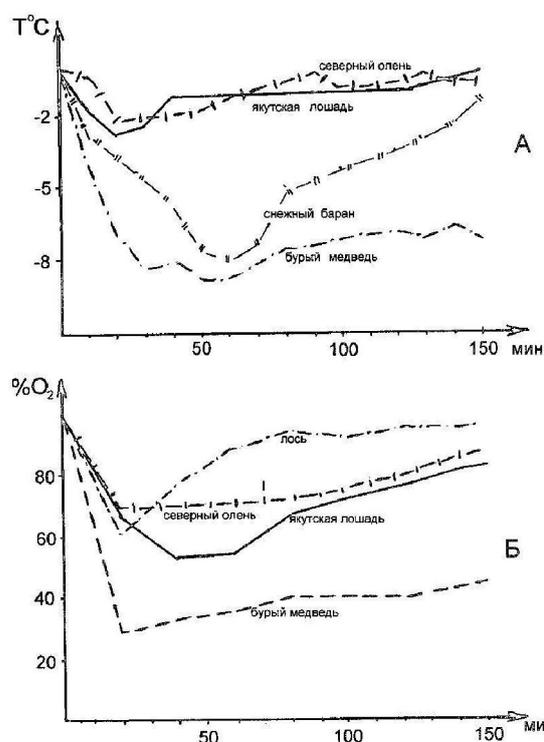


Рисунок 2 – Изменение температуры тела (А) и потребления кислорода (Б) после введения фракции из мозга крупных животных. Доза 1 мг/г.

Северный олень (n=5); якутская лошадь (n=10); снежный баран (n=3); бурый медведь (n=4); лось (n=3)

Различие между зимним сном медведей и зимней спячкой проявляется в том, что первые не пробуждаются в течение всей зимы, а зимоспящие показывают четкий ритм спонтанных пробуждений.

Зимняя спячка якутского суслика протекает при отрицательных температурах. Уровень потребления кислорода снижается на два порядка, в сравнении с активным периодом. Температура периферических частей тела опускается ниже нуля. При этом, температура внутри черепа остается положительной [2].

На рисунке 3 представлены температурные кривые выхода подопытных мышей из гипотермного состояния после введения фракции из мозга бурого медведя. Необходимо отметить, что время выхода мышей из этого состояния в 4-5 раз превышало время разогрева мышей после введения им фракции из мозга якутской лошади и длиннохвостого суслика. Опыт проводился на белых

мышам, разводимых в стандартных условиях.

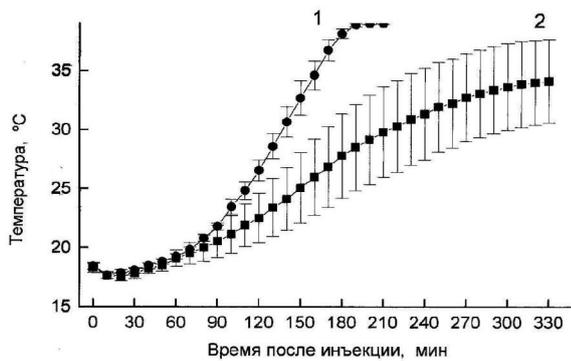


Рисунок 3 – Влияние интраназального введения фракции из мозга зимнего бурого медведя (доза 20 мкг) мышам (n=5), охлажденным в условиях гипоксии-гиперкапнии.

- 1 – контроль (физраствор);  
2 – опыт (фракция)

Холодоадаптированные и находящиеся в комфортных условиях мыши различаются по силе ответа на введение фракций из мозга якутской лошади и бурого медведя. У холодоадаптированных мышей в меньшей степени подавляется метаболизм при введении испытуемых фракций [4].

Более тридцати лет тому назад были опубликованы работы, в которых сообщалось, что голодные и акклиматизированные к холоду крысы имеют также повышенный уровень гипометаболических веществ, но уровень их активности на один-два порядка ниже, чем у гибернарующих животных [12, 15]. Поэтому, для достижения одного и того же эффекта этим группам мышей требуется разное количество физиологически активных веществ. Холодоадаптированным мышам требуется большая доза.

Фракция 1-10 кДа из мозга бурого медведя была использована как инструмент для определения её влияния на электрическую активность головного мозга лабораторных крыс. Центральное введение фракции в желудочек мозга крыс выявило следующее. В период 21-90 мин. достоверно уменьшалось число поведенческих реакций (груминг в три

раза, стойки ликвидировались, повороты уменьшались в два раза и стереотипные чесательные движения более чем в два раза). Крысы принимали позу, характерную для сна, закрывали глаза и впадали в сноподобное состояние. Существенно перестраивалась и электрическая активность мозга. Исходно ЭЭГ характеризовалась наличием широкого спектра частот в дельта-, каппа-, альфа- и бета-диапазонах. После инъекции усиливались медленные (бэта и дельта) и подавлялись высокие (альфа и каппа) частоты [6].

В период подготовки к спячке структура сна суслика включает в себя и медленноволновой, и парадоксальный сон; непосредственно перед входом в спячку общее время парадоксального сна возрастает; но по мере погружения в спячку эпизоды парадоксального сна урежаются и исчезают при 28-26°C [10, 11].

Поскольку температура тела бурых медведей не опускается ниже 29°C, можно предположить, что этому состоянию сопутствуют эпизоды парадоксального сна, благодаря которым животное быстро выходит из состояния зимнего сна в случае тревоги.

Разделение фракции 1-10 кДа и последующее тестирование привело к выделению ряда субфракций. Из них наиболее активной оказалась субфракция ВХ3. Эта субфракция ингибирует кальциевый ток медленного типа в перфорированных кардиомиоцитах на 60% (рис. 4).

**Заключение.** Сопоставляя наши результаты и литературные источники, приходим к выводу, что в тканях бурого медведя содержатся факторы, участвующие в организации особой формы зимней спячки. Различия в физиологических эффектах фракций, выделенных из тканей якутского длиннохвостого суслика и бурого медведя, обусловлены наличием в этих субстанциях специфически активных веществ, поддерживающих видовые особенности протекания спячки. Исходя из показателей температуры тела, уровня метаболизма и по влиянию фракции

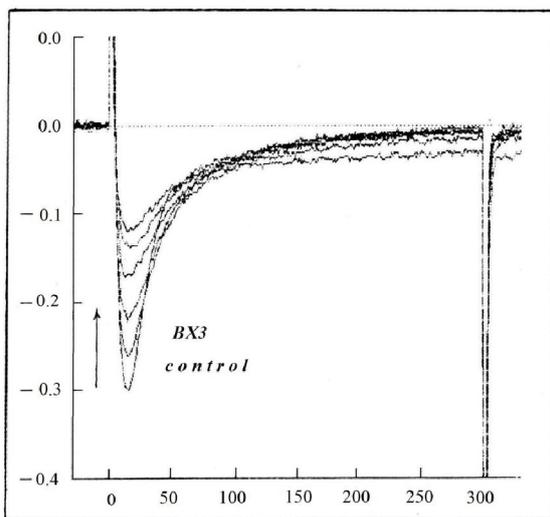


Рисунок 4 – Влияние фракции ВХЗ (100 мкг/мл) из мозга бурого медведя на кальциевый ток медленного типа в перфорированных кардиомиоцитах крыс. Время действия = 9 минут; по оси абсцисс – время в м/сек.; по оси ординат – ток в нА.

1-10 кДа мозга на физиологические функции реципиентов, этот вид следует отнести к «поверхностным» гибернантам.

#### Библиографический список

- Алексеев А.Е. Особенности функционирования и регуляция эндогенными пептидами потенциалзависимых  $Ca^{2+}$  каналов кардиоцитов спящих животных: автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. – Пушино, 1994. – 24 с.
- Ахременко А.К. Эколого-физиологическая характеристика якутского суслика (*Citellus undulatus jacutensis* Brandt, 1843): автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Свердловск, 1981. – 17с.
- Ахременко А. К. Применение масс-спектрометра МХ6202 в эколого-физиологических исследованиях / А.К. Ахременко, А.И. Ануфриев, В.М. Сафронов и др. // Экология. – 1989. – №1. – С.86-88.
- Ахременко А.К. Способ определения устойчивости терморегуляционной системы экспериментального животного / А.К. Ахременко, А. И. Ануфриев, В. Е. Сафронова и др. // А.с. СССР. – №1712956 от 15.01.1992.
- Зиганшин Р. Х. Выделение и биологические свойства пептидов из мозга зимоспящих и холодоадаптированных животных: автореф. дис. ...канд. биол. наук. - М., 1994. – 23 с.
- Игнатъев Д. А. Влияние фракции 1-10 кД из мозга бурого медведя (*Ursus arctos*) на белых мышей / Д. А. Игнатъев, В. В. Воробьев, А. К. Ахременко // Ж. эволюц. биохимии и физиологии. – 2004. – Т.40. – №4. – С.344-348.
- Игнатъев Д. А. Способ моделирования гипотермии / Д. А. Игнатъев, А. К. Ахременко, А. И. Ануфриев // А.с. СССР – № 1691870 от 10.10.1991.
- Кокос Ю. М. Действие веществ, содержащихся во фракциях мозга и тонкой кишки гибернирующих сусликов (*Citellus undulates*), на возбудимость кардиальных волокон / Ю. М. Кокос, О. В. Накипова., В. И. Свириев и др. // Механизмы зимней спячки. – Пушино, 1987. – С.147-159.
- Лобачев С. В. Охота на медведя / С.В. Лобачев – М., 1951. – 52 с.
- Пастухов Ю. Ф. Сон и оцепенение / Физиология человека и животных. Т.31. Механизмы сна. – М., ВИНТИ. - 1986. - С.59-110.
- Пастухов Ю.Ф. Парадоксальный сон – индикатор разных форм гипометаболизма у млекопитающих и птиц / Ю. Ф. Пастухов, Е. Л. Поляков, И. Е. Чепкасов и др. // Докл. РАН. Сер. физиол. – 1998. – Т.358. – №1. – С.131-133.
- Kalter V.G. Humoral induction of mammalian hibernation / V. G. Kalter, E.G.J. Folk // Comp. Biochem. and Physiol. 1979. – V.63A. – №1. – P.7-13.
- Kroll F. 1933 – цит. по Swan H. Neuroendocrine aspects of hibernation / Survival in the cold. -Amsterdam. Elsevia. – 1981. – P.121-138.
- Nelson R.A. Behavior, biochemistry and hibernation in black, grizzly and polar bears / R. A. Nelson, G. E. Folk, E. W. Pfeiffer et al. // Int. Conf. Bears Res. Manage. – 1983. – P.284-290.
- Swan H. Neuroendocrine aspects of hibernation // Survival in the cold. North Holland-Amsterdam. Elsevice. – 1981. – P. 121-138.
- Watts P. D. Mammalian hibernation and the oxygen consumption of a denning black bear (*Ursus americanus*) / P. D. Watts, N. A. Kristland, C. Jonrel et al // Comp. Biochem. and Physiol. – 1981. – V.69A. – №2. – P. 121-123.
- Wendt C. F. Uber Wirkungen eines extraktes aus dem braunen Fettge Webe winterschlafenden Jgels // Z. Physiol. Chem.

– 1937. – N.4. – P. 249.

18. Wendt C. F. Uber die Sencung des grundumsatezes dunch das brune Fettgewebe wintwerschlafendwten Jgel und durch Prolon // Z. Physiol. Chem. – 1943. – N.279. – P.153-168.

19. Ziganshin R. Biologically active peptides isolated from brains of hibernating ground squirrel and cold adapted yakutian horse / R. Ziganshin, I. Mikhaleva, V. Ivanov et al // Peptides: chemistry, structure and biology. – N.-Y. – 1996. – P.254-255.

УДК 619:576.895.772-619:576.895.773.4

**А. И. Барашкова, З. С. Прокопьев, А. Д. Решетников**  
ГНУ «Якутский НИИСХ РАСХН», Якутск  
E-mail: yniicx@mail.ru

### **СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ СЛЕПНЕЙ (DIPTERA, TABANIDAE) И ОВОДОВ (OEDEMAGENA TARANDI L. И CERPHENOMYIA TROMPE MODEER) ЯКУТИИ**

**Ключевые слова:** слепни, оводы, сезонная динамика, активность, экология.

*Изучена сезонная динамика численности слепней и оводов в условиях Якутии. Установлено, что сезон лёта слепней в западной зоне Якутии начинается с первой декады июня (6/VI) и заканчивается в первой декаде августа (2/VIII) при общей продолжительной активности 58 дней. В тундровой зоне Якутии общая продолжительность сезона лёта имаго пиллю ограничивается второй половиной июня – концом августа – началом сентября, сяну – июлем – концом августа – началом сентября.*

**A. Barashkova, Z. Prokopyev, A. Reshetnikov**  
SSI “Yakutsky Research Institute of Agriculture of Russian Academy of Agricultural Sciences”, Yakutsk  
E-mail: yniicx@mail.ru

### **SEASONAL DYNAMICS OF HORSEFLIES (DIPTERA, TABANIDAE) AND OESTRID FLIES (OEDEMAGENA TARANDI L. AND CERPHENOMIYA TROMPE MODEER) IN YAKUTIA**

**Key words:** horseflies, gadflies, seasonal dynamics, activity, ecology.

*The seasonal dynamics of the flies and horseflies in Yakutia was studied. It has been found that in the Western zone of Yakutia the flies' summer season starts in early June (6/VI) and ends in early August (2/VIII) with 58-days activity in total. In the Yakutian tundra imagines of the Tabanidae have a summer season from June – late August to early September; imagines of the Oestrid flies have it from July – late August to early September.*

**Введение.** Повсеместное распространение слепней и оводов северных оленей (Diptera) на территории Якутии и причиняемый ими ущерб животноводству побуждает исследователей постоянно совершенствовать меры борьбы с вредными насекомыми. Основополага-

ющими факторами при этом являются знания региональных особенностей экологии насекомых. Знание экологических особенностей слепней и оводов северных оленей требуется для установления сроков проведения мероприятий по защите сельскохозяйственных животных.