

DOI 10.17721/1728.2748.2021.86.1-53

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

Приведены экспериментальные данные об особенностях строения, развития и функционирования растительных и животных организмов, флоре и фауне Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии и медицины" в областях физиологии растений и животных, генетики, ботаники, зоологии, микробиологии, вирусологии. Изложены новые данные о биохимических и биофизических основах регуляции в клетках и органах в норме и после воздействия различных физико-химических факторов. Приведены результаты новых методических разработок.

Для преподавателей, научных сотрудников, аспирантов и студентов.

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР

Л. І. Остапченко, д-р біол. наук, проф.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Є. О. Торгалло, канд. біол. наук (відп. секр.); С. Є. Вакал, канд. біол. наук (техн. секр.); Шандор Макай, д-р біол. наук, проф. (м. Сомбатхей, Угорщина); Іван Бубриак, канд. мед. наук (Оксфорд, Велика Британія); В. Г. Хоперія, д-р мед. наук, проф.; В. С. Мартинюк, д-р біол. наук, проф.; М. Ю. Макаручак, д-р біол. наук, проф.; Н. Ю. Таран, д-р біол. наук, проф.; А. В. Сиволоб, д-р біол. наук, проф.; В. В. Джаган, канд. біол. наук, доц.; А. Г. Мойсеєнок, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. (м. Гродно, Білорусь), О. В. Жолос, д-р біол. наук, проф.; Брайон Каленгем, д-р мед. наук, проф. (м. Кембридж, Велика Британія); Т. В. Берегова, д-р біол. наук, проф.; С. В. Пилипенко, д-р біол. наук, проф. (м. Полтава, Україна); М. Є. Держинський, д-р біол. наук, проф.; Абенаволі Людовіко, д-р мед. наук (м. Катандзаро, Італія)

Адреса редколегії

ННЦ "Інститут біології та медицини";
просп. акад. Глушкова, 2 а, м. Київ, 03127, Україна
☎ (38044) 521-35-98; www.biovestnik.com; bulletin.vestnik@gmail.com

Затверджено

Вченою радою ННЦ "Інститут біології та медицини"
09.11.21 (протокол № 4)

Атестовано

Вищою атестаційною комісією України.
Постанова Президії ВАК України
№ 1-05/3 від 14.04.10

Зареєстровано

Міністерством юстиції України.
Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ № 16053-4525 ПР від 09.11.09

Засновник та видавець

Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет".
Свідоцтво внесено до Державного реєстру
ДК № 1103 від 31.10.02

Адреса видавця

ВПЦ "Київський університет",
б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна,
☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28

Журнал входить до наукометричних баз:

Index Copernicus (із 2012 р. ICV – 2019 = 71.39); Cite Factor (із 2014 р.); Research Bible (із 2013 р.); Academic Keys (із 2013 р.); DOAJ (із 2013 р.); EBSCO.EJS (із 2012 р.); Free medical journals list of Geneva Foundation for Medical Education and Research (із 2014 р.); HINARI (із 2013 р.); Medical Journals Links (із 2013 р.); OAJI (із 2012 р.); The Knowledge Network (із 2014 р.); Ulrich's Periodicals Directory (із 2012 р.); WorldCat (із 2013 р.); "Наукова періодика України" в Національній бібліотеці України імені В. І. Вернадського та в Національному депозитарії академічних текстів

DOI 10.17721/1728.2748.2021.86.1-53

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

Приведены экспериментальные данные об особенностях строения, развития и функционирования растительных и животных организмов, флоре и фауне Украины, полученные на основе исследований, проводимых учеными УНЦ "Институт биологии и медицины" в областях физиологии растений и животных, генетики, ботаники, зоологии, микробиологии, вирусологии. Изложены новые данные о биохимических и биофизических основах регуляции в клетках и органах в норме и после воздействия различных физико-химических факторов. Приведены результаты новых методических разработок.

Для преподавателей, научных сотрудников, аспирантов и студентов.

EDITOR-IN-CHIEF

Ostapchenko Lyudmila, Dr Hab., Prof.

EDITORIAL BOARD

Torgalo Elizabeth, PhD; Sergii Vakal, PhD (Tech. Editor); Sandor Makai, Dr Hab., Prof. (Szombathely, Hungary); Ivan Boubriak, PhD (Oxford, United Kingdom); Kopperiy Viktiryay, Dr Hab., Prof.; Viktor Martynyuk, Dr Hab., Prof.; Mykola Makarchuk, Dr Hab., Prof.; Nataliia Taran, Dr Hab., Prof.; Andrii Sivolob, Dr Hab., Prof.; Veronika Dzhagan, PhD, Associate Prof.; Andrei Moisieenok, Dr Hab., Prof., Corresponding Member of the NASB (Grodno, Belarus); Alexander Zholos, Dr Hab., Prof.; Brian Callingham, Dr Hab., M. D., Prof. (Cambridge, United Kingdom); Tetiana Berehova, Dr Hab., Prof.; Sergey Pilipenko, Dr Hab., Prof. (Poltava, Ukraine); Mykola Dzerzhynskyi, Dr Hab., Prof.; Ludovico Abenavoli, PhD, M. D., Associate Prof. (Catanzaro, Italy)

Editorial address

ESC "Institute of Biology and Medicine",
2a, acad. Glushkov av., Kyiv, 03127, Ukrainian
☎ (38044) 521 35 98; www.biovestnik.com; bulletin.vestnik@gmail.com

Approved by

The Academic Council of the ESC "Institute of Biology and Medicine"
09.11.21 (Protokol № 4)

Attested by

Higher Attestation Commission of Ukraine
HAC Presidio decree № 1-05/3 (April 14th, 2010)

Registered by

Ministry of Justice of Ukraine.
Registration certificate
KV № 16053-4525 ПП (November 9th, 2009)

Founded and Published

Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Publishing house "Kyiv University".
Certificate included in the State Register
ДК № 1103 від 31.10.02

Publisher's Address

Publishing and Polygraphic Center "Kyiv University",
14, Taras Shevchenka Blvd., Kyiv, 01601, Ukraine,
☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; fax 239 31 28

Abstracted and Indexed:

Academic Keys, CiteFactor, Directory of Open Access Journals (DOAJ), E-Library.ru, Hinari, Geneva Foundation for Medical Education and Research, DRJI, Open Academic Journal Index (OAJI), Quality Open Access Market (QOAM), ResearchBib, Ulrich's Periodicals, WorldCat, Ukrainian scientific journals; V. I. Vernadsky National Library of Ukraine, The journal uses CLOCKSS digital archiving policy as well as an electronic archive of Vernadsky National Library of Ukraine.

ЗМІСТ

Брянцева Б.-М., Тарнопольська О., Котик О., Котлярова А. Вплив неостигміну, гексаметонію і метиллікаконітину на високопровідні катіонні канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів.....	6
Креницька Д., Рачковська А., Савчук О., Карбовський В. Біохімічні параметри функціонального стану печінки у хворих на гепатит В за умови коінфекції SARS-CoV-2	12
Коломійчук В., Шиндер О. Доповнення до спонтанної флори Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна	18
Мариненко Т., Галенова Т., Остапченко Л. Вплив фракції IgG із плазми крові пацієнтів з гострими коронарними синдромами на параметри судинно-тромбоцитарної ланки системи гемостазу	27
Федорчук С., Романюк В. Психофізіологічні складові стресостійкості кваліфікованих спортсменів (академічне веслування)	32
Савчук О., Короткий О., Кот Л. Рівень середньомолекулярних пептидів у хрящовій тканині суглоба щурів за експериментального остеоартриту при введенні пробіотичної композиції	38
Веденичова Н., Аль-Маалі Г., Кот Л., Остапченко Л., Гарманчук Л. Рівень глюкози та гамма-глутамілтранспептидазна активність у клітинах гепатоцитарного походження за дії екстрактів та цитокінінових фракцій лікарських грибів	45
Куценко Т., Вістизенко М., Наседкін Д. Вияв емоційного ефекту Струпа у студентів при реагуванні на слова із семантичного поля "алкоголь"	51
Пономаренко А., Коротєєва Г., Будзанівська І., Шевченко Т. Філогенетичний аналіз ізолятів вірусів мозаїки цимбідіуму та кільцевої плямистості одонтоглосуму, виділених з орхідних <i>Phalaenopsis</i> sp.	56

СОДЕРЖАНИЕ

Брянцева Б.-М., Тарнопольская О., Котик Е., Котлярова А. Влияние неостигмина, гексаметония и метилликаонитина на высокопроводимые катионные каналы ядерной мембраны нейронов Пуркинье мозжечка крыс.....	6
Креницкая Д., Рачковская А., Савчук А., Карбовский В. Биохимические параметры функционального состояния печени у больных гепатитом при условии коинфекции SARS-CoV-2.....	12
Коломийчук В., Шиндер О. Дополнение к спонтанной флоре Ботанического сада имени акад. А. В. Фомина.....	18
Мариненко Т., Галенова Т., Остапченко Л. Влияние фракции IgG из плазмы крови пациентов с острыми коронарными синдромами на параметры сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза.....	27
Федорчук С., Романюк В. Психофизиологические составляющие стрессоустойчивости квалифицированных спортсменов (академическая гребля).....	32
Савчук О., Короткий О., Кот Л. Уровень средномолекулярных пептидов в хрящевой ткани сустава крыс с экспериментальным остеоартритом при введении пробиотической композиции.....	38
Веденичева Н., Аль-Маали Г., Кот Л., Остапченко Л., Гарманчук Л. Уровень глюкозы и гамма-глутамилтранспептидазная активность в клетках гепатоцитарного происхождения при действии экстрактов и цитокининовых фракций лекарственных грибов.....	45
Куценко Т., Вистизенко М., Наседкин Д. Проявление эмоционального эффекта Струпа у студентов при реагировании на слова из семантического поля "алкоголь".....	51
Пономаренко А., Коротеева А., Будзанивская И., Шевченко Т. Филогенетический анализ вирусов мозаики цимбидиума и кольцевой пятнистости одонтоглоссыма, выделенных из орхидных <i>Phalaenopsis</i> sp.	56

CONTENTS

Briantseva B.-M., Tarnopolska O., Kotyk O., Kotliarova A. The effect of neostigmine, hexamethonium and methyllycaconitine on large-conductance cation channels in the nuclear membrane of cerebellar Purkinje neurons of rats	6
Krenytska D., Rachkovska A., Savchuk O., Karbovskiy V. Biochemical parameters of the functional state liver in patients with hepatitis under conditions of SARS-CoV-2 coinfection	12
Kolomiychuk V., Shynder O. Addition to the spontaneous flora of O. V. Fomin botanical garden (Kyiv)	18
Marynenko T., Halenova T., Ostapchenko L. The effect of IgG fraction from blood plasma of patients with acute coronary syndromes on the parameters of primary haemostasis	27
Fedorchuk S., Romaniuk V. Psychophysiological components of stress resistance of qualified athletes (academic rowing)	32
Savchuk O., Korotkyi O., Kot L. Level of middle molecular peptides in the articular cartilage of rats under experimental osteoarthritis and administration of probiotic composition.....	38
Vedenicheva N., Al-Maali G., Kot L., Ostapchenko L., Garmanchuk L. The glucose level and gamma-glutamyl transpeptidase activity in hepatocyte-like cells under the action of extracts and cytokinin fractions of medicinal mushrooms.....	45
Kutsenko T., Vistyzenko M., Nasedkin D. Manifestation of the emotional Stroop effect in students when responding to words from the semantic field of "Alcohol"	51
Ponomarenko A., Korotieieva H., Budzanivska I., Shevchenko T. Phylogenetic analysis of Cymbidium mosaic and Odontoglossum ringspot viruses isolated from <i>Phalaenopsis</i> sp.	56

ВПЛИВ НЕОСТИГМІНУ, ГЕКСАМЕТОНІЮ І МЕТИЛЛІКАКОНІТИНУ НА ВИСОКОПРОВІДНІ КАТІОННІ КАНАЛИ ЯДЕРНОЇ МЕМБРАНИ НЕЙРОНІВ ПУРКІНЬЄ МОЗОЧКА ЩУРІВ

Високопровідні катіонні канали (LCC-канали), знайдені в обох ядерних мембранах нейронів Пуркіньє мозочка, є найбільш розповсюдженим типом спонтанно-активних іонних каналів серед інших ідентифікованих. Їхні структура та фізіологічні функції на сьогоднішній день залишаються невідомими, але результати попередніх робіт підтвердили їхню чутливість до низької речовин класу агоністів/антагоністів нікотинових ацетилхолінових рецепторів. Метою цієї роботи було дослідити вплив інших речовин, що модулюють функціонування холінорецепторів, – неостигміну, гексаметонію, метиллікаконітину на LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркіньє мозочка щурів. Вплив перелічених речовин оцінювали на основі змін таких біофізичних параметрів: амплітуди струму через канал, імовірності перебування каналу у відкритому стані, виникнення ефекту миготіння каналу. Іонні струми крізь поодинокі канали фіксували з використанням методу петч-клемп у конфігурації nucleus-attached у режимі фіксації потенціалу.

Серед досліджених у цій роботі речовин лише MLA і гексаметоній вплинули на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркіньє мозочка. Гексаметоній у концентрації 2 ммоль/л зменшував Po LCC-каналів на 46 % відносно контролю. Під впливом MLA спостерігали незначний ефект миготіння каналу ("poisson surprise" становив 2,14 у контролі та 3,81 за дії 200 мкмоль/л MLA, відповідно). Достовірної зміни біофізичних характеристик функціонування LCC-каналів за дії неостигміну не виявлено. Незважаючи на незначний ступінь ефективності дії описаних у роботі речовин, відсутність характерного моделюючого впливу є вагомим аргументом на користь їх використання у медицині з огляду на їхній широкий терапевтичний потенціал. Варто зазначити, що встановлення фармакологічної чутливості LCC-каналів, незалежно від ступеня вираженості впливу речовини, є необхідним для комплексного аналізу закономірностей впливу цих речовин на молекулярну динаміку досліджуваних каналів. Отримані результати матимуть також важливе значення для пошуку та синтезу нових і більш ефективних інгібіторів LCC-каналів.

Ключові слова: LCC-канали, неостигмін, гексаметоній, метиллікаконітин, ядерна мембрана.

Вступ. Ядерна оболонка містить широкий профіль транспортувальних систем, які забезпечують "перенесення" між цитоплазмою, нуклеоплазмою та перинуклеарним простором. Ядерно-поровий комплекс (далі ЯПК) наскрізно пронизує ядерну оболонку і забезпечує активний та пасивний нуклеоцитоплазматичний транспорт. ЯПК є високоселективним для макромолекул, але неселективним для іонів та метаболітів із $M_r < 60$ кДа [12]. В обох ядерних мембранах щільно розміщені іонні канали різних типів із різною провідністю, з яких LCC-канали (Large conductance cation channels) є найбільш численними на одиницю площі поверхні серед спонтанно-активних іонних каналів [2]. Ці дані можуть свідчити про те, що така їх кількість обумовлена необхідністю реалізації важливих фізіологічних процесів, які відбуваються у клітині.

LCC-канали є потенціалзалежними іонними каналами з порівняно повільною кінетикою, вони селективні до одновалентних катіонів K^+ , Na^+ , Cs^+ та непроники для двовалентних катіонів Ca^{2+} , Ba^{2+} і аніонів Cl^- . Мають високу провідність: у ядерних мембранах нейронів Пуркіньє мозочка 198 ± 27 пСм, за позитивних значень потенціалів демонструють високу ймовірність перебування у відкритому стані [15]. Однак структура цих каналів, а також їх фізіологічна роль у клітині на сьогоднішній день залишаються невизначеними, саме тому ми поставили за мету пошук їх специфічного блокатора, як необхідного інструмента для реалізації поставлених задач.

Раніше було встановлено, що LCC-канали є чутливими до речовин із класу блокаторів і активаторів н-холінових рецепторів. Холінергічні рецептори відповідають за нервово-м'язову передачу сигналів і поділяються на два класи: мускаринові (М-холінорецептори) та нікотинові (Н-холінорецептори) відповідно до їх специфічного активатора – мускарину та нікотину. Серед н-холінорецепторів розрізняють два підтипи: N1 та N2, периферичний/м'язовий та центральний/нейрональний рецептор, відповідно. Різний рівень їх експресії може визначати різні шляхи розвитку у головному мозку, впливаючи на міграцію клітин, ріст нейронів та сигнальні шляхи [6]. У ссавців було ідентифіковано 11 субодиниць н-холінорецепторів: $\alpha 2$ – $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\beta 2$ – $\beta 4$, хоча про функціональну

значущість багатьох із них на сьогоднішній день відомо мало [24]. Деякі з н-холіномодуляторів, зокрема тубокурарин, нікотин, броміди рокуронію та піпекуронію тощо ефективно інгібували LCC-канали [2, 10], але за відносно високих концентрацій (0,2–2 ммоль/л). Як продовження цих робіт ми обрали декілька наступних речовин для дослідження впливу на LCC-канали, а саме неостигмін (у формі фармакологічного препарату прозерину), гексаметоній та метиллікаконітин (MLA).

Матеріали та методи. Дослідження виконано на ядрах нейронів Пуркіньє мозочка 3–4-тижневих щурів лінії Wistar відповідно до положень Європейської конвенції із захисту тварин, яких використовують у експериментах (Страсбург, 1986), а також положень Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України. У роботі був застосований електрофізіологічний метод дослідження поодиноких каналів patch-clamp у конфігурації "nucleus-attached" у режимі фіксації потенціалу, мікроелектроди виготовляли з боросилікатного скла ("Sutter Instruments", США), використовуючи вертикальний пуллер, та заповнювали охолодженим розчином такого складу (ммоль/л): KCl – 150; NEPES – 8; NEPES-калієва сіль – 12; EGTA – 1 (pH 7,2) – далі робочий розчин KCl.

Петч-піпетки виготовляли двоетапно з боросилікатних заготовок. На першому етапі за вищої температури (81,6°C) трубочку-заготовку розтягували на центральному відрізьку з використанням обмежувача для утворення звуженої ділянки – "шийки". На другому етапі за температури 62–65 °C (залежно від температури навколишнього середовища) після розриву заготовки формувалися дві однакові петч-піпетки з опором 8–14 МОм.

Зрізи мозочка завтовшки приблизно 400 мкм виготовляли вручну на кріо-столику та перенесли в охолоджені розчин такого складу (ммоль/л): калію глюконат – 150; NEPES – 10; NEPES-калієва сіль – 10 (pH 7,2), а також суміш інгібіторів протеаз (cOMplete Protease Inhibitor Cocktail tablets, "Roche", Німеччина) – 1,6 мг/мл, після чого заморожували у пробірках типу Eppendorf за -20 °C. Ядра центральних нейронів ізолювали шляхом механічної гомогенізації розмороженого зразка тканини мозочка шприцем із

затуплюючи металеву голку діаметром 0,7 мм. Після процедури гомогенізації зразок осаджували центрифугуванням протягом 5 хв за $g=2000$ (4°C ; miniSpin "EppendorfAG", Німеччина). Після осадження супернатант замінювали на робочий розчин KCl. Вміст пробірки з розчином ресуспендували, після чого додавали приблизно 30 мкл зразка у робочу камеру об'ємом 200 мкл, попередньо заповнену робочим розчином KCl. Ядрам необхідно 4-7 хв для того, щоб осісти на дно камери, після чого її промивали охолодженим розчином KCl, щоб позбутися залишків клітин.

Ядра нейронів Пуркінє відрізняються більшим розміром порівняно з ядрами інших нейронів та відсутністю другого ядраця порівняно з ядрами клітин Беца. Методика дозволяє швидко ізолювати інтактні ядра, придатні для проведення електрофізіологічних досліджень із використанням методу *patch-clamp* [15]. Діючі речовини вносили у камеру проточною аплікацією.

Статистично-математичне опрацювання результатів досліджень здійснювали за допомогою програмного забезпечення Clampfit 10.7 та Origin 9.1. Залежно від серії експериментів оцінювали дозозалежність впливу речовини і/або залежність її ефекту від потенціалу. Основними аналізованими біофізичними характеристиками були: амплітуда струму крізь канал, імовірність його перебування у відкритому стані (P_o) та виникнення ефекту миготіння каналу. Статистичні результати представлено у вигляді $M \pm m$, де M – середнє, m – стандартна похибка середнього. Вірогідність різниці оцінювали на основі t-критерію Стьюдента (* – $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,01$, *** – $P \leq 0,001$).

Результати та їх обговорення. Базуючись на попередніх даних стосовно фармакологічної чутливості LCC-каналів до речовин із класу n-ацетилхолінових модуляторів, ми продовжили дослідження впливу речовин цього класу на функціонування LCC-каналів. Характер впливу сполук, а також їх ефективність є необхідною

умовою розробки системних підходів для розуміння механізмів та закономірностей дії цих речовин на активність каналів у межах одного класу речовин. Усі обрані сполуки різною мірою знайшли терапевтичне застосування, тому встановлення будь-яких фізіологічних змін під їх впливом становить інтерес із позиції перегляду потенціалу їх подальшого використання.

Першою з досліджуваних у цій роботі речовин став неостигмін. Неостигмін (прозерин, $\text{Mg}=223,296$) $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$ – четвертинна амонієва сполука, парасимпатоміметик, інгібітор ацетилхолінерастери, спрощений аналог фізостигміну з більшою ефективністю дії [20]. Холінерастери – група ферментів, які гідролізують нейромедіатор ацетилхолін, попереджуючи подальшу передачу нервового імпульсу. Інгібітори холінерастери пролонгують ефект дії ацетилхоліну, призводячи до гіперстимуляції рецепторів, а також надмірного накопичення нейротрансмітера у синапсах [7]. Неостигмін впливає на обидва класи холінергічних рецепторів, але через особливості хімічної структури не проходить гематоенцефалічний бар'єр. Активно використовується у медицині для поліпшення м'язового тону людей з міастенією [9, 26], лікування глаукоми, псевдообструкції кишечника, у післяопераційному періоді з метою припинення нервово-м'язової блокади, викликаної міорелаксантами [9, 13, 26], а також як протидія деяким зміїним отрутам [14, 20]. Має вплив як на нервово-м'язові синапси, так і на синапси вегетативної нервової системи, що нерідко призводить до побічних ефектів [9, 13].

Під впливом неостигміну не зареєстровано ані зміни амплітуди струму крізь канали, ані їх миготіння ($n=4$). Як видно з амплітудних діаграм до однієї з отриманих реєстрацій, спостерігали лише тенденцію до зменшення P_o за всіх значень прикладеного потенціалу, але достовірної зміни не зареєстровано (рис. 1).

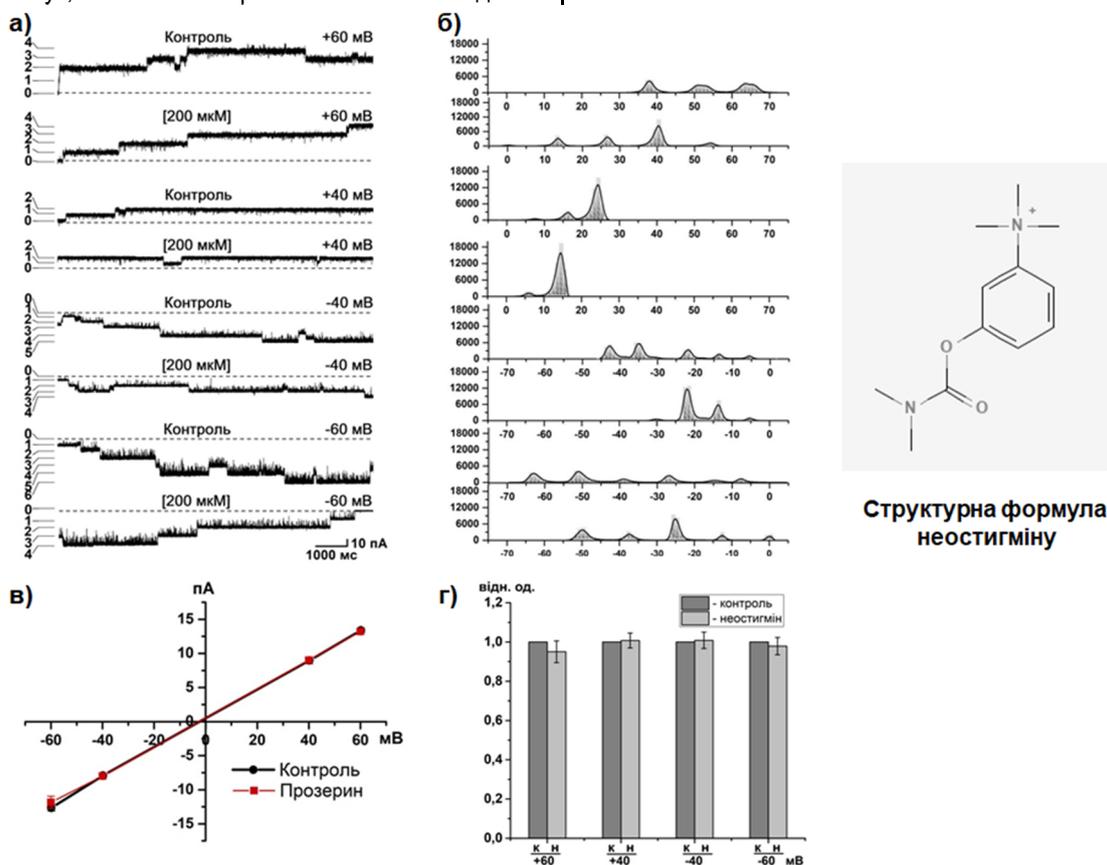


Рис. 1. Типові реєстрації струму крізь LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє за аплікації неостигміну у концентрації 200 мкмоль/л (а) і його амплітудні діаграми (б); вольт-амперна характеристика (в) та амплітуда струму крізь LCC-канали (г) за дії неостигміну

Раніше нами показано, що гексаметоній не змінював амплітуду струму крізь LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів [2]. Продовжуючи вивчення впливу цієї речовини, ми оцінили її вплив на інші біофізичні параметри, такі як P_o та ефект миготіння каналу.

Гексаметоній (гексану дибензолсульфонат, $M_r=202,39$) $C_{12}H_{30}N_2$ – це четвертинна амонієва сполука, антагоніст нікотинових ацетилхолінових рецепторів [26]. Блокує передачу сигналу в автономних гангліях та нервово-м'язовому синапсі шляхом блокування іонних каналів, асоційованих із ацетилхоліновим рецептором [3]. Основний ефект полягає у блокуванні синаптичної передачі нікотинових рецепторів на постгангліонарних вегетативних нейронах [18]. До того ж відомо, що гексаметоній здатен дозозалежно блокувати калієві канали саркоплазматичного ретикулу [8]. Він використовувався для терапевтичного лікування важких випадків гіпертензії, але через

широкий спектр дії, включаючи блокування симпатичної та парасимпатичної систем, пізніше був замінений більш специфічними аналогами [16]. Більшість побічних ефектів були безпосередньо пов'язані з гангліоблокуючою дією препарату та призводили до зниження артеріального тиску. Деякі пацієнти під час терапії гексаметонієм скаржилися на труднощі у процесі читання [21, 23]. Сьогодні широко використовується як інструмент у наукових дослідженнях [16].

Гексаметоній у концентрації 0,05-2 ммоль/л не змінював амплітуду струму крізь канал, ефекту миготіння також не виникало ($n=5$). Імовірність перебування у відкритому стані за концентрації 2 ммоль/л достовірно зменшилась на 46 % ($P \leq 0,01$), тоді як у менших концентраціях достовірних змін виявлено не було (рис. 2).

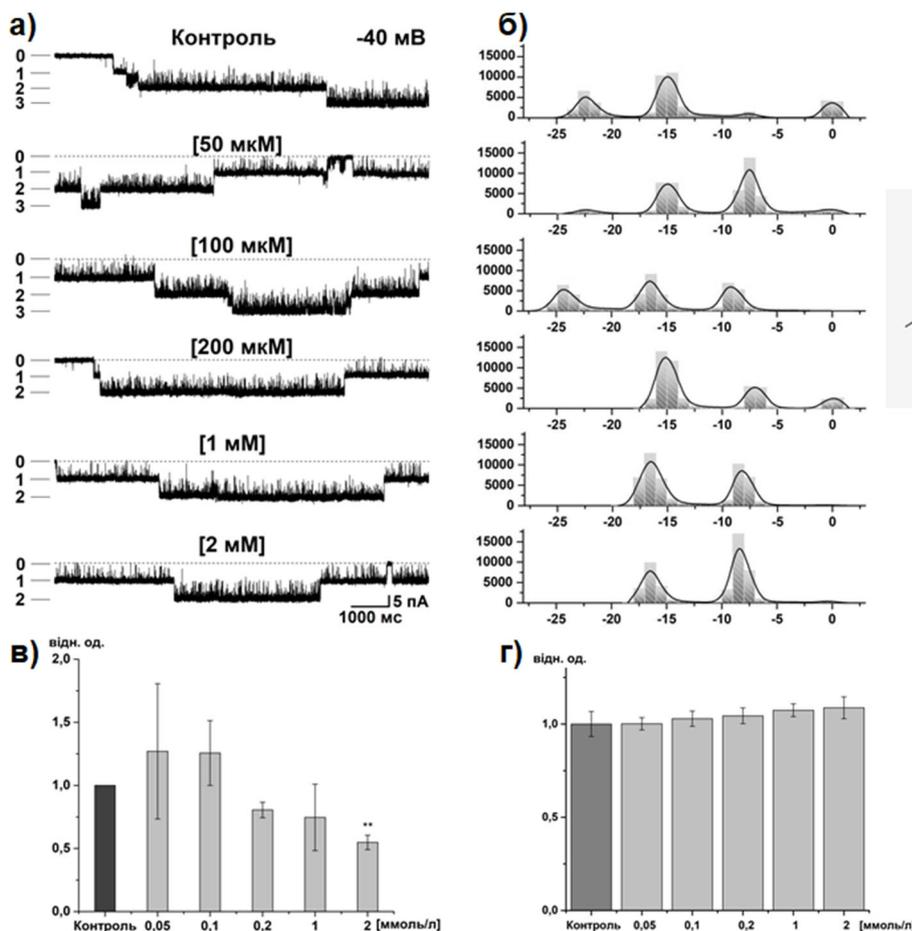


Рис. 2. Репрезентативні фрагменти реєстрацій струму крізь LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє в контролі та після аплікації гексаметонію в різних концентраціях за потенціалу -40 мВ (а) та його амплітудні діаграми (б); зміна параметра P_o (** – $P \leq 0,01$) (в) за дії речовини 0,05-2 ммоль/л та її вплив на амплітуду струму крізь канал (г)

У наступній серії експериментів продовжували досліджувати вплив MLA на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани [1].

MLA (метиллікаконітин, $M_r=682,811$) $C_{37}H_{50}N_2O_{10}$ – знайдений у рослинах дельфінію (рід *Delphinium*) погано розчинний у воді дитерпеноїдний алкалоїд [4, 19]. Є селективним літиком $\alpha 7$ - [5] та $\alpha 3$ -субодиниць н-холінорецепторів із приблизною афінністю 1 нМ та 20-40 нМ, відповідно [24], діє як потенційний антагоніст альфа-бунгаротоксину [5]. Блокує АТФ-керовані струми з більшою ефективністю, але меншою селективністю по-

рівняно з деякими іншими речовинами із класу блокаторів н-холінових рецепторів [11]. У електрофізіологічних експериментах, імітуючих умови *in vivo*, було зареєстровано значне посилення відповіді $\alpha 7$ -н-холінорецепторів при введенні пікомольних концентрацій MLA. Під час досліджень із використанням методу мікродіалізу було встановлено властивість речовини впливати на відтік глутамату з гіпокампу, що, у свою чергу, корелює із процесами пам'яті. Цей факт підкреслює потенціал використання MLA для поліпшення когнітивного сприйняття при неврологічних та психічних розладах [25]. Фармакологі-

чна дія MLA аналогічна курареподібним речовинам: блокує синаптичну передачу у вегетативних гангліях, нікотинних синапсах ЦНС та скелетних нервово-м'язових синапсах [17, 19]. Також метиллікаконітин здатний знижувати залежність організму від нікотину та каннабіноїдів, але питання про його терапевтичне застосування все ще залишається відкритим через суперечливі дані щодо його токсичності [22]. Володіє інсектицидною дією проти деяких комах [19]. Нітроген та С₁₈ Оксиген у молекулі MLA є визначальними для її розпізнавання ацетилхоліновими рецепторами [17].

Додавання MLA (50–500 мкмоль/л) до середовища супроводжувалося виникненням слабкого ефекту миготіння каналу. Зокрема, у контролі середня кількість подій в одній пачці спрацьовувань (burst) становить 4, а ефект "poisson surprise" 2,14. Аналогічні показники за дії MLA у концентрації 200 мкмоль/л становили 4 та 3,81, відповідно. У досліджуваних концентраціях MLA не впливав на амплітуду струму кризь досліджувані канали. Виявлено тенденцію до зменшення P_o, але через низьку вибірку з повною концентраційною залежністю (n=1) не можемо стверджувати про статистичну достовірність цього ефекту (рис. 3).

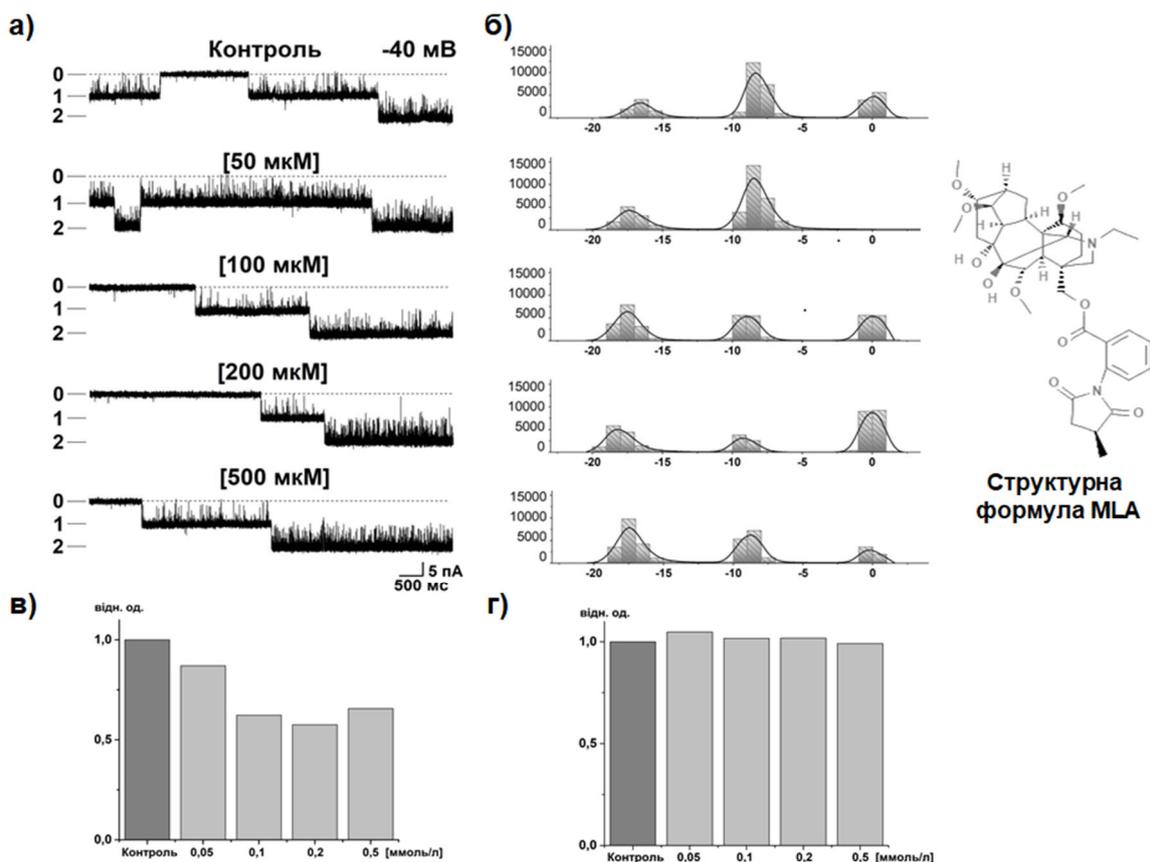


Рис. 3. Оригінальні реєстрації струму кризь LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє за аплікації MLA (а) та його амплітудні діаграми (б); концентраційно-залежна (0,05-0,5 ммоль/л) зміна показника P_o (в) та вплив MLA на амплітуду K⁺- струму кризь канал (г)

Таким чином, серед досліджуваних нами речовин лише MLA і гексаметоній вплинули на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка. Гексаметоній у концентрації 2 ммоль/л зменшував P_o LCC-каналів на 46 % відносно контролю. Під впливом MLA спостерігали незначний ефект миготіння каналу ("poisson surprise" становив 2,14 у контролі та 3,81 за дії 200 мкмоль/л речовини). Достовірної зміни біофізичних характеристик функціонування LCC-каналів за дії неостигміну не виявлено. Незважаючи на незначний ступінь ефективності дії описаних у роботі речовин відсутність характерного моделюючого впливу є вагомим аргументом на користь їх використання у медицині з огляду на їхній широкий терапевтичний потенціал. Варто зазначити, що встановлення фармакологічної чутливості LCC-каналів до речовин із класу регуляторів н-ацетилхолінових рецепторів, незалежно від ступеню вираженості їх впливу, є необхідним для комплексного аналізу закономірностей впливу цих

речовин на молекулярну динаміку досліджуваних каналів. Отримані результати матимуть також важливе значення для пошуку чи синтезу нових та більш ефективних інгібіторів LCC-каналів.

Подяка. Дослідження виконано за часткової підтримки гранту на виконання проєктів науково-дослідних робіт (НДР) молодих учених НАН України (2021–2022 рр.) (конкурсний проєкт "Фармакологічна чутливість та експресія катіонних каналів великої провідності у ядрах клітин різного типу"); номер держреєстрації 0121U112012.

Список використаних джерел

1. Вплив деяких анестетиків та природних отрут на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани кардіоцитів та нейронів Пуркінє мозочка / О. Котик, А. Котлярова, О. Ісаєва та ін. // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка: Біологія. – 2019. – Т. 3, № 79.
2. Функціонування катіонних каналів великої провідності ядерної мембрани під впливом модуляторів нікотинних холінорецепторів / А. Котлярова, О. Котик, І. Юришинець, С. Марченко // Фізіологічний журнал. – 2019. – Т. 65, № 6.

3. Adams D. Modes of hexamethonium action on acetylcholine receptor channels in frog skeletal muscle / D. Adams, S. Bevan, D. Terrar // *Br. J. Pharmacol.* – 1991. – Vol. 102, № 1. – P. 135-145.
4. The principal toxin of Delphinium brownii Rydb., and its mode of action / V. Aiyar, M. Benn, T. Hanna et al. // *Experientia.* – 1979. – T. 35, № 10. – P. 1367-1368.
5. Human alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor responses to novel ligands / C. Briggs, D. McKenna, M. Piattoni-Kaplan et al. // *Neuropharmacology.* – 1995. – Vol. 34, № 6. – P. 583-590.
6. Carlson A. Physiology, Cholinergic Receptors [Electronic resource] / A. Carlson, G. Kraus // *StatPearls.* – Access mode: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30252390/>
7. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology / M. Colovic, D. Krstic, T. Lazarevic-Pasti et al. // *Current Neuropharmacology.* – 2013. – Vol. 11, № 3. – P. 315-335.
8. Coronado R. Decamethonium and hexamethonium block K⁺ channels of sarcoplasmic reticulum / R. Coronado, C. Miller // *Nature.* – 1980. – Vol. 288, № 5790. – P. 495-497.
9. Kleinz M. The pharmacology of the autonomic nervous system / M. Kleinz, I. Spence // *Small Animal Clinical Pharmacology.* – 2008. – P. 59-82.
10. Effects of Blockers of Large-Conductance Cation Channels of the Nuclear Membrane / O. Kotyk, A. Kotlyarova, N. Pavlova et al. // *Neurophysiology.* – 2017. – Vol. 49, № 2. – P. 151-153.
11. Methyllycaconitine, α -bungarotoxin and (+)-tubocurarine block fast ATP-gated currents in rat dorsal root ganglion cells / U. Lalo, Y. Pankratov, O. Krishtal et al. // *British Journal of Pharmacology.* – 2004. – Vol. 142, № 8. – P. 1227-1232.
12. Lange A. Nuclear Pores and Nuclear Import/Export / A. Lange, A. Corbett // *Encyclopedia of Biological Chemistry.* – 2013. – P. 318-323.
13. Liu J. Neostigmine / J. Liu // *Reference Module in Biomedical Sciences.* – 2017.
14. Reevaluation and update on efficacy and safety of neostigmine for reversal of neuromuscular blockade / J. Luo, S. Chen, S. Min et al. // *Therapeutics and Clinical Risk Management.* – 2018. – Vol. 14. – P. 2397-2406.
15. Spontaneously active and InsP₃-activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurons / S. Marchenko, V. Yarotsky, T. Kovalenko et al. // *J Physiol.* – 2005. – Vol. 565, № 3. – P. 897-910.
16. Tagliatalata M. Hexamethonium [Electronic resource] / M. Tagliatalata, E. Panza // *Reference Module in Biomedical Sciences.* – 2018. – Access mode: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383973124>
17. Larkspur poisoning: toxicology and alkaloid structure-activity relationships / K. Panter, G. Manners, B. Stegelmeier et al. // *Biochemical Systematics and Ecology.* – 2002. – Vol. 30, № 2. – C. 113-128.
18. Hexamethonium [Electronic resource] // *PubChem Substance and Compound databases.* – Access mode: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3604>
19. Methyllycaconitine Perchlorate, Delphinium sp. [Electronic resource] // *PubChem Substance and Compound databases.* – Access mode: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/494471>
20. Neostigmine. [Electronic resource] // *PubChem Substance and Compound databases.* – Access mode: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Neostigmine#section=Computed-Descriptors>
21. Smith K. Hypertension and its Control by Hexamethonium / K. Smith, P. Fowler, V. Edmunds // *BMJ.* – 1954. – Vol. 2, № 4899. – P. 1243-1250.
22. Nicotinic α 7 Receptors as a New Target for Treatment of Cannabis Abuse / M. Solinas, M. Scherma, L. Fattore et al. // *Journal of Neuroscience.* – 2007. – Vol. 27, № 21. – P. 5615-5620.
23. Stuppy L. Hexamethonium and hydralazine hydrochloride for treatment of hypertension / L. Stuppy // *Calif Med.* – 1954. – Vol. 80, № 3. – P. 189-91.
24. Tucci S. Methyllycaconitine (MLA) blocks the nicotine evoked angiogenic effect and 5-HT release in the dorsal hippocampus: possible role of α 7 receptors / S. Tucci, R. Genn, S. File // *Neuropharmacology.* – 2003. – Vol. 44, № 3. – P. 367-373.
25. Antagonizing α 7 nicotinic receptors with methyllycaconitine (MLA) potentiates receptor activity and memory acquisition / N. Van Goethem, D. Paes, D. Puzzo et al. // *Cellular Signalling.* – 2019. – Vol. 62.
26. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 / D. Wishart, Y. Feunang, A. Guo et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2018. – Vol. 46, № D1. – P. D1074-D1082.
3. Adams D.J., Bevan S., Terrar D.A. Modes of hexamethonium action on acetylcholine receptor channels in frog skeletal muscle // *Br J Pharmacol.* 1991; 102(1):135-145. Available from: doi:10.1111/j.1476-5381.1991.tb12144.x.
4. Aiyar V. N., Benn M. H., Hanna T., Jacyno J., Roth S. H., Wilkens J. L. The principal toxin of Delphinium brownii Rydb., and its mode of action // *Experientia.* 1979; 35(10): 1367-1368. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF01964013>.
5. Briggs C. A., McKenna D. G., Piattoni-Kaplan M. Human alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor responses to novel ligands // *Neuropharmacology.* 1995; 34(6): 583–590. Available from: [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(95\)00028-5](https://doi.org/10.1016/0028-3908(95)00028-5).
6. Carlson A. and Kraus G. Physiology, Cholinergic Receptors // In: *StatPearls* [Internet]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30252390/>.
7. Colovic M., Krstic D., Lazarevic-Pasti T., Bondzic A. and Vasic V. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology // *Current Neuropharmacology.* 2013; 11(3): 315-335.
8. Coronado R., Miller C. Decamethonium and hexamethonium block K⁺ channels of sarcoplasmic reticulum // *Nature.* 1980; 288(5790):495-497. Available from: doi:10.1038/288495a0.
9. Kleinz M. The pharmacology of the autonomic nervous system // *Small Animal Clinical Pharmacology.* 2008; 59-82.
10. Kotyk O., Kotlyarova A., Pavlova N. and Marchenko S. Effects of Blockers of Large-Conductance Cation Channels of the Nuclear Membrane // *Neurophysiology.* 2017; 49(2):151-153.
11. Lalo U., Pankratov Y., Krishtal O., Alan North R. Methyllycaconitine, α -bungarotoxin and (+)-tubocurarine block fast ATP-gated currents in rat dorsal root ganglion cells // *British Journal of Pharmacology.* 2004; 142(8): 1227-1232. Available from: doi:10.1038/sj.bjp.0705878.
12. Lange A. and Corbett A. H. Nuclear Pores and Nuclear Import/Export // *Encyclopedia of Biological Chemistry.* 2013; 318–323. Available from: doi:10.1016/b978-0-12-378630-2.00437-0.
13. Liu J. Neostigmine // *Reference Module in Biomedical Sciences.* 2017.
14. Luo J., Chen S., Min S. and Peng L. Reevaluation and update on efficacy and safety of neostigmine for reversal of neuromuscular blockade // *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2018; (14): 2397-2406.
15. Marchenko S., Yarotsky V., Kovalenko T., Kostyuk P., Thomas R. Spontaneously active and InsP₃-activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurons // *J Physiol.* 2005; Jun;565(3):897-910.
16. Tagliatalata M. and Panza E. Hexamethonium // *Reference Module in Biomedical Sciences.* 2018. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383973124>.
17. Panter K. E., Manners G. D., Stegelmeier B. L., Lee S., Gardner D. R., Ralphs M. H., Pfister J. A. and James L. F. Larkspur poisoning: toxicology and alkaloid structure-activity relationships // *Biochemical Systematics and Ecology.* 2002; 30(2): 113–128. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(01\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(01)00123-5).
18. Hexamethonium // *PubChem Substance and Compound databases.* Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3604>.
19. Methyllycaconitine Perchlorate, Delphinium sp. // *PubChem Substance and Compound databases.* Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/494471>.
20. Neostigmine. // *PubChem Substance and Compound databases.* Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Neostigmine#section=Computed-Descriptors>.
21. Smith K., Fowler P. and Edmunds V. Hypertension and its Control by Hexamethonium // *BMJ.* 1954; 2(4899): 243-1250.
22. Solinas M., Scherma M., Fattore L., Stroik J., Wertheim C., Tanda G. et al. Nicotinic α 7 Receptors as a New Target for Treatment of Cannabis Abuse // *Journal of Neuroscience.* 2007; 27(21): 5615-5620.
23. Stuppy L. Hexamethonium and hydralazine hydrochloride for treatment of hypertension // *Calif Med.* 1954; 80(3):189-91.
24. Tucci S., Genn R. and File S. Methyllycaconitine (MLA) blocks the nicotine evoked angiogenic effect and 5-HT release in the dorsal hippocampus: possible role of α 7 receptors // *Neuropharmacology.* 2003; 44(3): 367-373.
25. Van Goethem N., Paes D., Puzzo D., Fedele E., Rebosio C., Gulisano V. et al. Antagonizing α 7 nicotinic receptors with methyllycaconitine (MLA) potentiates receptor activity and memory acquisition // *Cellular Signalling.* 2019; 62:109338.
26. Wishart D.S., Feunang Y.D., Guo A.C., et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018 // *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D1074-D1082. Available from: doi:10.1093/nar/gkx1037.

Reference (Scopus):

1. O. Kotyk, A. Kotlyarova, O. Isaieva et al. Pplyv deiaktykh anestetikyv ta pryrodnykh otrut na funkcionuvannia LCC-kanaliv yadernoi membrany kardiomyotsytiv ta neuroniv Purkinie mozochka // *Visnyk Kyivskoho natsionalnoho universytetu imeni Tarasa Shevchenka: Biolihiia.* – 2019. – T. 3, № 79. Ukrainian.
2. A. Kotlyarova, O. Kotyk, I. Yuryshynets et al. Funkcionuvannia kationnykh kanaliv velykoi providnosti yadernoi membrany pid vplyvom modulatoriv nikotyynykh kholinoretseptoriv // *Fiziol. zhurn.* – 2019. – T. 65, № 6. Ukrainian.

Надійшла до редколегії 14.09.2021
Отримано виправлений варіант 14.10.2021
Підписано до друку 14.10.2021

Received in the editorial 14.09.2021
Received version on 14.10.2021
Signed in the press on 14.10.2021

^{1,2} Б.-М. Брянцева, студ.,

^{1,2} О. Тарнопольская, студ.,

¹ Е. Котик, канд. биол. наук,

¹ А. Котлярова, канд. биол. наук

¹ Институт физиологии имени О. О. Богомольца НАН Украины, Киев, Украина,

² Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ НЕОСТИГМИНА, ГЕКСАМЕТОНИЯ И МЕТИЛЛИКАКОНИТИНА НА ВЫСОКОПРОВОДИМЫЕ КАТИОННЫЕ КАНАЛЫ ЯДЕРНОЙ МЕМБРАНЫ НЕЙРОНОВ ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА КРЫС

Высокопроводящие катионные каналы (LCC-каналы), найденные в обеих ядерных мембранах нейронов Пуркинье мозжечка, являются наиболее распространенным типом спонтанно-активных ионных каналов среди других идентифицированных. Их структура и физиологические функции на сегодняшний день остаются неизвестными, но результаты предварительных работ подтвердили их чувствительность к ряду веществ класса агонистов/антагонистов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Целью этой работы было исследовать влияние других веществ, модулирующих функционирование холинорецепторов, – неостигмина, гексаметония, метилликаконитина на LCC-каналы ядерной мембраны нейронов Пуркинье мозжечка крыс. Влияние перечисленных веществ оценивали на основе изменений таких биофизических параметров: амплитуды тока, вероятности нахождения канала в открытом состоянии, возникновения эффекта мерцания канала. Ионные токи через одиночные каналы фиксировали с использованием метода пэтч-клемп в конфигурации *patch-clamp* в режиме фиксации потенциала. Среди исследуемых веществ только MLA и гексаметоний повлияли на функционирование LCC-каналов ядерной мембраны нейронов Пуркинье мозжечка. Гексаметоний в концентрации 2 ммоль/л уменьшал P_o LCC-каналов на 46 % относительно контроля. Под влиянием MLA наблюдали незначительный эффект мерцания канала (*Poisson surprise* составил 2,14 в контроле и 3,81 при действии 200 мкмоль/л MLA, соответственно). Достоверного изменения биофизических характеристик функционирования LCC-каналов при действии неостигмина обнаружено не было. Несмотря на низкую степень эффективности действия описанных в работе веществ отсутствие характерного модулирующего воздействия является весомым аргументом в пользу их использования в медицине, учитывая их широкий терапевтический потенциал. Следует отметить, что установление фармакологической чувствительности LCC-каналов, независимо от степени выраженности воздействия вещества, необходимо для комплексного анализа закономерностей воздействия этих веществ на молекулярную динамику исследуемых каналов. Полученные результаты также имеют важное значение для поиска или синтеза новых и более эффективных ингибиторов LCC-каналов.

Ключевые слова: LCC-каналы, неостигмин, гексаметоний, метилликаконитин, ядерная мембрана.

^{1,2} B.-M. Briantseva, stud.,

^{1,2} O. Tarnopolska, stud.,

¹ O. Kotyk, PhD,

¹ A. Kotliarova, PhD

¹ Bogomolets Institute of Physiology NASU, Kyiv, Ukraine,

² Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE EFFECT OF NEOSTIGMINE, HEXAMETHONIUM AND METHYLLYCACONITINE ON LARGE-CONDUCTANCE CATION CHANNELS IN THE NUCLEAR MEMBRANE OF CEREBELLAR PURKINJE NEURONS OF RATS

Large-conductance cation channels (LCC-channels) were found in both (inner and outer) nuclear membranes of cerebellar Purkinje neurons. They are the most common type of intracellular spontaneously active ion channels among other identified. Their structure and physiological functions are still unknown, but the previous findings confirmed their sensitivity to a number of agonists/antagonists of nicotinic acetylcholine receptors. The purpose of the investigation was to estimate the effect of other regulators of the N-cholinoreceptors functioning – neostigmine, hexamethonium, and methyllycaconitine (MLA) on the LCC-channels in the nuclear membrane of cerebellar Purkinje neurons of rats. The effect of the agents was estimated based on changes in the following biophysical parameters: current amplitude, P_o , channel flickering effect. Ion currents through single channels were registered using the patch-clamp technique in a nucleus-attached mode in voltage-clamp configuration.

Among the studied substances, only MLA and hexamethonium influenced the LCC-channels functioning. Hexamethonium at a concentration of 2 mM reduced the P_o of the LCC-channels by 46%. Under the influence of MLA, a slight effect of channel flickering was observed ("Poisson surprise" was 2.14 in the control and 3.81 under the influence of 200 μ M of the substance respectively). No significant change of the biophysical characteristics of the LCC-channels under the influence of neostigmine was detected. Despite the low efficiency as LCC-channels blockers, the lack or only slight effect is a strong argument in favor of the substance usage in medicine due to their wide therapeutic potential. The severity of their effects is necessary for a comprehensive analysis of the effect patterns of the abovementioned substances on the molecular dynamics of the studied channels. The results will also be important for the identification or synthesis of new and more effective inhibitors of the LCC-channels.

Keywords: LCC-channels, neostigmine, hexamethonium, methyllycaconitine, nuclear membrane.

БІОХІМІЧНІ ПАРАМЕТРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ГЕПАТИТ В ЗА УМОВИ КОІНФЕКЦІЇ SARS-CoV-2

Пандемія COVID-19, що розпочалася наприкінці 2019 року в Китаї, за кілька місяців поширилася на всі континенти, триває донині та становить вагомую загрозу для системи охорони здоров'я в усьому світі, адже необхідно надавати інтенсивну допомогу раніше немислимій кількості пацієнтів. Хоча SARS-CoV-2 передусім викликає ураження органів дихальної системи, проте дослідження показують, що COVID-19 – прихований ворог для нашого організму, унаслідок чого страждають інші органи також, зокрема печінка. У літературі за невеликий період пандемії накопичилось чимало наукової інформації щодо змін біохімічних параметрів печінки за розвитку COVID-19. Наше дослідження було зосереджено на клінічній діагностиці пацієнтів, що хворіють на гепатит В та були інфіковані SARS-CoV-2. Додатково досліджено осіб, що хворіють на COVID-19, і пацієнтів із розвитком гепатиту В (HBV). Здійснено порівняння досліджуваних груп для виявлення взаємозв'язку між інфікуванням SARS-CoV-2 та прогресуванням HBV. Нами встановлено, що в пацієнтів, хворих на гепатит В з коінфекцією SARS-CoV-2, спостерігаються значні відхилення від фізіологічної норми таких параметрів функціонування печінки, як АЛТ, АСТ, загальний і прямий білірубін, однак у граничних значеннях норми перебувають такі показники, як ГГТ та лужна фосфатаза. Пропоноване дослідження може бути корисним для діагностики потенціальних ускладнень із боку печінки в пацієнтів, уражених SARS-CoV-2, і свідчить про необхідність ретельного контролю за пацієнтами, що хворіють на гепатит В з коінфекцією SARS-CoV-2. Також рекомендовано здійснити додаткову клінічну діагностику таких груп хворих для виявлення інших параметрів розвитку патологічних станів і поліпшення підходів діагностики/лікування у групах високого ризику пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2.

Ключові слова: гепатит В, SARS-CoV-2, печінкові проби.

Вступ. У грудні 2019 року виникнув спалах невідомого раніше гострого респіраторного синдрому, викликаний SARS-CoV-2, у місті Ухань, провінція Хубей, Китай. Інфекційне захворювання почало стрімко поширюватися країнами всіх континентів, а з 11 березня 2020 року ВООЗ визнала COVID-19 глобальною пандемією. На момент написання цієї статті інфіковано вже 219 млн людей, з них 4,54 млн летальних випадків [1, 2]. Перш за все SARS-CoV-2 викликає важке респіраторне захворювання дихальних шляхів, однак у міру клінічних та наукових досліджень з'являється все більше інформації щодо впливу цього нового захворювання на інші органи, у тому числі й на печінку.

На сьогодні порушення функціонування печінки спостерігається у 14–53 % пацієнтів із COVID-19, особливо при тяжкому перебігу хвороби. Загалом виявлено випадки зростання вмісту таких біохімічних маркерів печінки у госпіталізованих пацієнтів, як АЛТ та АСТ, злегка підвищена концентрація білірубину. Збільшення вмісту АСТ – найбільш поширене відхилення від норми у пацієнтів із COVID-19. Зниження концентрації альбуміну пов'язане з важкою інфекцією та поганим прогнозом [3, 17]. Імовірно, існує декілька можливих причин пошкодження печінки у пацієнтів із COVID-19, включаючи механізм дії вірусу чи імунної системи на клітини печінки і токсичність препаратів, що використовують при його лікуванні.

Вчені висловили припущення, що SARS-CoV-2 може зв'язуватися із рецепторами ACE2, що експресуються більше ніж у 80 % альвеолярних клітин легенів [3]. Було виявлено, що ACE2 високо експресується у холангіоцитах – клітинах жовчних проток, а також гепатоцитах – клітинах печінки, однак експресія ACE2 у холангіоцитах набагато вища (59,7 %), ніж у гепатоцитах (2,6 %) [4,5]. Можливо, печінка – потенційна мішень під час прямого інфікування SARS-CoV-2, але поки що не було проведено достатньо досліджень для підтвердження механізму впливу COVID-19 на печінку через зв'язування із ACE2.

Порушення регуляції вродженої імунної відповіді може бути одним із аспектів пошкодження печінки при COVID-19. У пацієнтів спостерігається помітна активація маркерів запалення, таких як аномальне підви-

щення вмісту С-реактивного білка, лімфоцитів, нейтрофілів та цитокінів. Активація клітин вродженого імунітету та вивільнення цитокінів – відома причина пошкодження печінки [6]. Зокрема, клінічні дослідження показують, що лімфопенія та вміст С-реактивного білка у пацієнтів із COVID-19 незалежно пов'язані з пошкодженням печінки [7].

До того ж електронно-мікроскопічне дослідження печінки пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2, показало, що прогресування хвороби викликає стрес ендоплазматичного ретикулуму та індукцію ліпогенезу. Останній також може сприяти виникненню неспецифічних запальних змін, включаючи стеатоз гепатоцитів, помірну проліферацію клітин синусу печінки та гіперплазію клітин Купфера [8]. Гістологічні дослідження печінки пацієнтів зі смертельним респіраторним COVID-19 показали низку мікроскопічних змін, таких як судинні аномалії, стеатоз та мітохондріальні аномалії [11]. Біопсія печінки у пацієнтів із SARS-CoV-2 показала значне збільшення мітотичних клітин з еозинофільними тілами та гепатоцитами балоноподібної форми. Це дозволяє припустити, що SARS-CoV-2 може викликати апоптоз клітин печінки, а отже, пошкодження органа [16].

Ще однією можливою причиною пошкодження печінки є вживання деяких лікарських засобів для лікування COVID-19. Наприклад, зареєстрована лікувальна патологія печінки (ЛПП) під час ураження SARS-CoV-2 у 2–10 % пацієнтів при використанні таких протівірусних лікарських засобів, як лопінавір/ритонавір [9]. Також використання протимікробних препаратів і антибіотиків, що нерідко призначають важко хворим пацієнтам із COVID-19, вважається частою етіологією ЛПП [10].

Дослідження показують, що люди, які мають хронічне захворювання печінки, у тому числі гепатит В, більше схильні до ураження SARS-CoV-2 та важкого перебігу інфекційного захворювання. Крім цього, потрібно встановити взаємозв'язки між двома захворюваннями, тобто з'ясувати, чи впливає COVID-19 на прогресування гепатиту В і чи призводить до активної реплікації вірусу. Клінічні спостереження пацієнтів, хворих на гепатит В та інфікованих COVID-19, неоднозначні [12].

У Шанхайському клінічному центрі було проведено дослідження 326 пацієнтів, з них 20 випадків – особи, хворі на гепатит В та інфіковані COVID-19, і 306 пацієнтів без коінфекції HBV. Не було зафіксовано відмінностей у параметрах функціонування печінки, включаючи аланінамінотрансферазу (АЛТ), аспартатамінотрансферазу (АСТ), лужну фосфатазу, γ -глутамілтрансферазу (ГГТ), лактатдегідрогеназу, загальний білірубін, прямий білірубін, альбумін та глобулін [13]. Інше дослідження 347 пацієнтів було проведено у Третій народній лікарні Шеньчженя (Китай). Результати демонструють, що інфекція SARS-CoV-2 може викликати порушення вмісту АЛТ та ГГТ у пацієнтів із COVID-19, що страждають на гепатит В та без нього. Проте було зазначено, що пацієнти з COVID-19, коінфіковані хронічним HBV, можуть мати реактивацію гепатиту В [14].

З іншого боку, клінічні спостереження пацієнтів із COVID-19 у лікарні Чжунань Університету Ухань показують, що 47 % (7/15) пацієнтів, які до того ж страждали на HBV, мали важкий перебіг респіраторної хвороби. Два пацієнти з коінфекцією SARS-CoV-2 та HBV померли відразу після надходження до лікарні. Один із них помер від тяжкого захворювання печінки, інший – від кишкової кровотечі, що пов'язана з пошкодженням ШКТ [13]. Ще було зареєстровано випадок 36-річного чоловіка з реактивацією HBV, психічними розладами та гіпертрансаміназемією на тлі COVID-19. У пацієнта був аномально високий вміст АСТ (4933 Од/л), АЛТ (4758 Од/л) та загального білірубину (183,9 ммоль/л). Зазначалося, що пацієнти з порушеннями функції печінки зазвичай мають підвищений ризик інфікування SARS-CoV-2 [15].

Таким чином, ситуація щодо інфікування SARS-CoV-2 та супутнього прогресування HBV у пацієнтів неоднозначна. На сьогодні клінічних спостережень такого перебігу захворювання недостатньо, щоб зробити логічні висновки. Тому ми вирішили детально вивчити анамнез, результати біохімічних досліджень функціонування печінки у пацієнтів, що хворіють тільки COVID-19, HBV та HBV із коінфекцією COVID-19.

Мета роботи: з'ясувати вплив COVID-19 на біохімічні параметри печінки (активність АЛС, АСТ, лужної фосфатази, ГГТ, загальний та прямий білірубін) у пацієнтів з гепатитом В, порівняти результати лабораторних досліджень у людей, які інфіковані лише COVID-19, HBV та COVID-19 з коінфекцією HBV.

Матеріали і методи. У клінічному обстеженні взяли участь 74 пацієнти, серед яких 31 жінка та 43 чоловіки віком від 40 до 65 років. Для аналізу було відібрано кров пацієнтів натщесерце з вени у поліетиленову пробірку. Оскільки об'єктом дослідження була сироватка крові, то відібраний матеріал інкубували при температурі 37 °С протягом 30 хв, після чого центрифугували та відбирали надосадову рідину. Усі дослідження виконували з використанням діагностичних наборів і автоматичного біохімічного аналізатора "Selectra Pro XL" виробництва компанії "ELITechGroup".

Визначення активності лужної фосфатази здійснювали за принципом каталізу лужною фосфатазою реакції гідролізу *p*-нітрофенілфосфату при рН 10,4 з вивільненням *p*-нітрофенолу та фосфату. Вимірювання оптичної густини проб здійснювали за $\lambda=405$ нм, після проводили перерахунок результатів досліджень.

Визначення активності АЛТ відбувалось під час каталізу реакції переамінування – перенесення аміногрупи з аланіну на α -кетоглутарат. Утворений в цій реакції пірват за участю ферменту ЛДГ і коферменту НАДН перетворюється на лактат. Швидкість окиснення НАДН під час другої реакції визначається за зменшенням оптичної

щільності реакційного середовища при 340 нм і є пропорційною активності АЛТ, що міститься у зразку і вимірюється на фотометрі.

Визначення активності АСТ відбувалося під час каталізу реакції переамінування – перенесення аміногрупи з аспартату на α -кетоглутарат. Утворений у цій реакції оксалоацетат за участі ферменту малатдегідрогенази (МДГ) і коферменту НАДН перетворюється на малат. Швидкість окиснення НАДН під час другої реакції визначається за зменшенням оптичної щільності реакційного середовища при 340 нм і є пропорційною активності АСТ, що міститься у зразку і вимірюється на фотометрі.

Визначення активності ГГТ відбувалося під час каталізу реакції перенесення γ -глутамільної групи з γ -глутаміл-*p*-нітроаніліду на акцепторний гліцилгліцин. Каталітична активність ГГТ у зразку пропорційна зміні концентрації 3-карбокси-4-нітроаніліну (синонім: 2-нітро-5-амінобензойна кислота) і вимірюється на фотометрі. Вимірювання оптичної густини проб здійснювали за $\lambda=405$ нм, після проводили перерахунок результатів досліджень.

Визначення концентрації прямого та загального білірубину здійснювали за таким принципом: сульфанілова кислота реагує з нітритом натрію, утворюючи діазотовану сульфанілову кислоту. За наявності акселератора (цетримід) прямий та непрямий білірубін реагують із діазотованою сульфаніловою кислотою, утворюючи азобілірубіновий комплекс (Білірубін Загальний 4 + 1). За відсутності акселератора реагує тільки прямий білірубін (Білірубін Прямий 4 + 1). Вимірювання оптичної густини проб здійснювали за $\lambda=546$ нм, після проводили перерахунок результатів досліджень.

Статистичний аналіз проводили з використанням програми STATISTICA 12. Оцінювання відмінностей між групами пацієнтів здійснювали за допомогою *H*-критерію Краскела – Уолліса, статистично значущими вважали результати при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Біохімічні параметри печінки – важливі сигнали для передбачення розвитку патологічних станів організму. Вище ми зазначали, що достовірного погляду щодо взаємодії SARS-CoV-2 та HBV немає, тому наше дослідження спрямоване на вивчення біохімічних змін у печінці при розвитку SARS-CoV-2, HBV, SARS-CoV-2 та HBV порівняно з умовно здоровими пацієнтами.

Проаналізувавши зміни активності АЛТ у сироватці крові 74 пацієнтів, ми з'ясували, що в осіб, інфікованих SARS-CoV-2, активність АЛТ зростає у 3,12 раза, інфікованих HBV – у 7,29 раза, інфікованих SARS-CoV-2 та HBV – у 8,77 раза порівняно з умовно здоровими пацієнтами. При цьому активність АЛТ у пацієнтів, що хворіють на гепатит В та зазнали ураження SARS-CoV-2, у 2,8 раза вища порівняно з пацієнтами, інфікованими лише SARS-CoV-2 (рис. 1). Причиною цього може бути сумісне ураження гепатоцитів як прямою гепатотропною дією вірусного гепатиту, так і системними змінами у функціонуванні організму при коронавірусній хворобі. Зокрема, потрібно враховувати те, що пацієнти, хворі на SARS-CoV-2, приймали антибіотики, які можуть впливати на функціональний стан печінки.

Нами було встановлено, що активність АСТ у пацієнтів, що хворіють на COVID-19, у 4,5 раза вища, у пацієнтів, хворих на гепатит В, – у 10,42 раза, в осіб, які страждають від SARS-CoV-2 та HBV – у 12,33 раза порівняно з умовно здоровими пацієнтами. Варто зауважити, що в осіб, інфікованих SARS-CoV-2 та HBV, активність АСТ більше у 2,76 раза порівняно із хворими тільки на COVID-19,

а також активність АСТ більше у 1,18 раза, ніж у пацієнтів із гепатитом В (рис. 1). Зважаючи на те, що АСТ – це фермент не тільки печінки, він міститься у серці, скелетних м'язах, нирках, мозку, ми припускаємо, що частково

зростання його активності у сироватці крові може бути зумовлене ініційованими гіпоксичними умовами та тромбоемболічними порушеннями функцій клітин серцевого м'язу, нирок тощо.

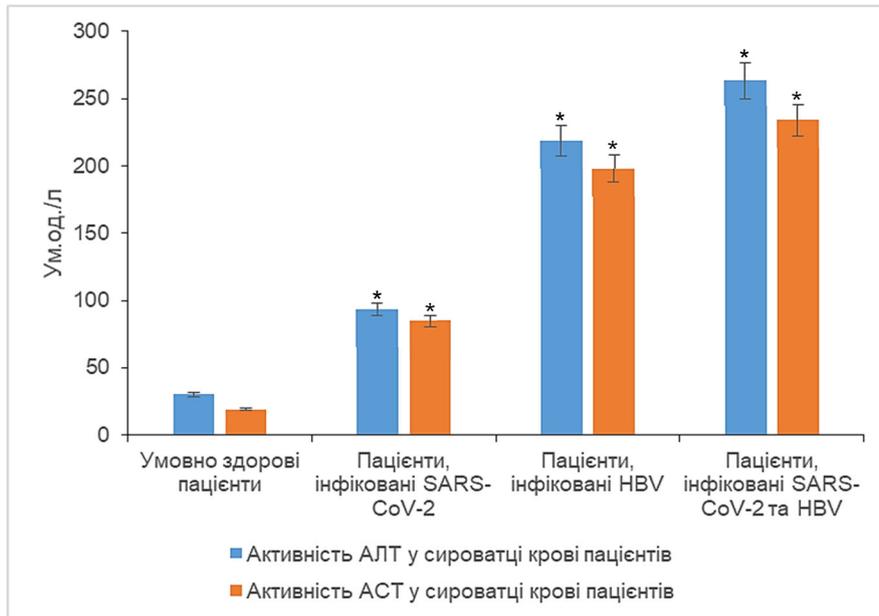


Рис. 1. Активність АЛТ та АСТ у сироватці крові пацієнтів

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно умовно здорової групи пацієнтів.

Вагому клінічну цінність має коефіцієнт де Рітиса (співвідношення АСТ до АЛТ), зокрема цей параметр корисний у медичній діагностиці для диференціювання причин пошкодження печінки або гепатотоксичності. Отримані результати досліджень указують на те, що значення цього показника дуже підвищується при розвитку патологічних станів, таких як інфікування SARS-CoV-2 та HBV, порівняно із групою умовно здорових пацієнтів. Хоча значення коефіцієнта де Рітиса перебуває на доволі високому рівні, але в межах фізіологічної норми в усіх досліджуваних групах.

Ми встановили, що активність лужної фосфатази у пацієнтів, хворих на COVID-19, перевищена у 1,95 раза, інфікованих HBV – у 2,26 раза, уражених SARS-CoV-2 та HBV – у 2,34 раза порівняно з умовно здоровою групою осіб (рис. 2). Хоча активність лужної фосфатази значно вища у хворих пацієнтів, ніж в умовно здорових, її значення не виходять за межі фізіологічної норми. Тому аналізувати активність лужної фосфатази за зазначених патологічних станів недоцільно.

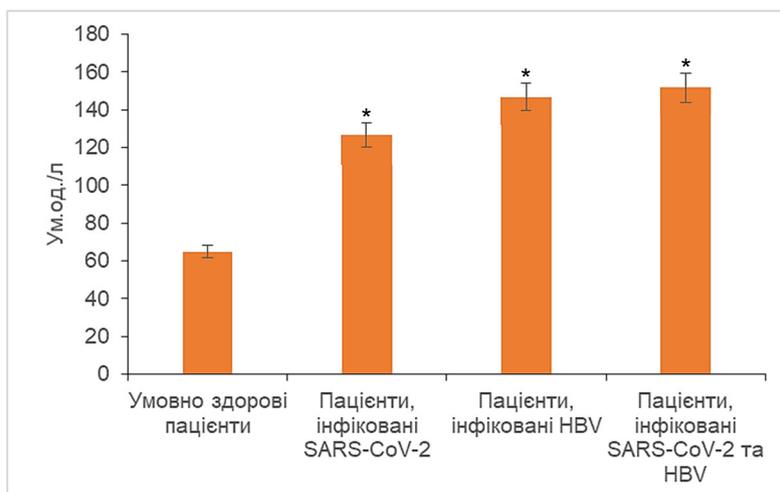


Рис. 2. Активність лужної фосфатази у сироватці крові пацієнтів

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно умовно здорової групи пацієнтів.

Клінічні дослідження активності ГГТ показали, що у пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2, цей параметр перевищений у 2,8 раза, хворих на гепатит В – у 4,88 раза, а в тих, що страждають від COVID-19 та HBV, – у 5 разів

порівняно з умовно здоровою групою осіб (рис. 3). При цьому активність ГГТ між групами хворих пацієнтів достовірно не відрізняється, хоча й виходить за межі фізіологічних норм.

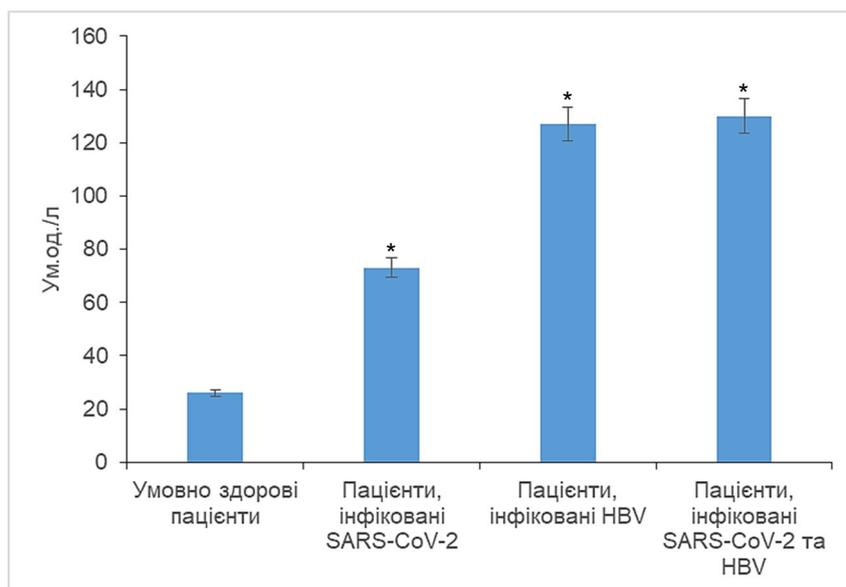


Рис. 3. Активність ГТТ у сироватці крові пацієнтів

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно умовно здорової групи пацієнтів.

Нами було проаналізовано концентрацію загального та прямого білірубину (рис. 4) у всіх групах пацієнтів. Передусім треба зазначити, що у пацієнтів, які хворіють на COVID-19, концентрація загального білірубину незначно перевищує норму – 28,6 мкмоль/л за фізіологічного значення < 20 мкмоль/л. Проте вміст загального білірубину в пацієнтів із гепатитом В у 13,54 раза, а в пацієнтів із SARS-CoV-2 та HBV – у 22,89 раза більший порівняно з контрольною групою. Значної різниці між вмістом загального білірубину в пацієнтів, інфікованих HBV, та хворих на гепатит В з коінфекцією COVID-19 не виявлено, проте в пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2 та HBV, концентрація загального білірубину у 15,3 раза вища, ніж у осіб, які хворіють тільки на COVID-19. Це може вказувати на зна-

чне зниження здатності печінки поглинати білірубін із сироватки крові. Також не слід виключати вплив медикаментозної терапії на обмін жовчних пігментів.

Щодо концентрації прямого білірубину в сироватці крові пацієнтів виявлено, що у хворих на COVID-19 вміст прямого білірубину більший у 2,74 раза, в інфікованих гепатитом В – у 26,53 раза, в уражених і SARS-CoV-2, і HBV – у 48,4 раза порівняно з умовно здоровою групою пацієнтів. При цьому вміст прямого білірубину у хворих на гепатит В та пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2 з коінфекцією HBV, значно відрізняється: на 83 % більше концентрація прямого білірубину у хворих на COVID-19 та гепатит В. Такі результати свідчать про ушкодження жовчосекреторної функції печінки у хворих із вірусним гепатитом В, що особливо виражено при коінфікуванні SARS-CoV-2.

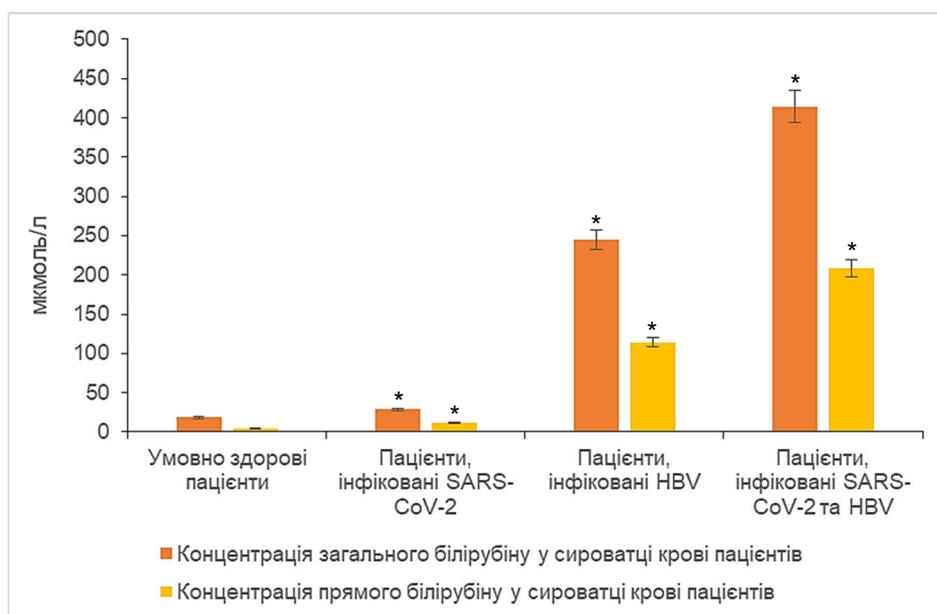


Рис. 4. Концентрація загального та прямого білірубину у сироватці крові пацієнтів

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно умовно здорової групи пацієнтів.

Результати дослідження біохімічних показників функціонального стану печінки показують, що у хворих на гепатит В з коінфекцією SARS-CoV-2 активність таких ферментів, як АЛТ та АСТ, значно відрізняється, однак коефіцієнт де Рітиса лежить у граничних значеннях фізіологічної норми. Змін активності лужної фосфатази та ГГТ не зафіксовано. Спостерігаються зміни концентрацій прямого та загального білірубину у хворих на гепатит В з коінфекцією SARS-CoV-2, що може свідчити про порушення жовчосекреторної функції печінки.

Висновки. У ході дослідження біохімічних параметрів печінки здорових та хворих пацієнтів було встановлено вагомі зміни активності АЛТ, концентрації прямого та загального білірубину у пацієнтів, інфікованих HBV з коінфекцією SARS-CoV-2. Наведені результати діагностики підтверджують, що COVID-19 викликає порушення функціонального стану печінки, до того ж стимулює розвиток патологічних станів у пацієнтів із гепатитом В. Це свідчить про потребу ретельного клінічного обстеження та нагляду за хворими на HBV з коінфекцією SARS-CoV-2 для запобігання критичним станам. Подальші дослідження впливу SARS-CoV-2 на печінку забезпечать формування розуміння механізмів негативної дії вірусу на орган, стимулювання розвитку патологій та розробку нових методів лікування цієї хвороби.

Список використаних джерел

1. An overview of COVID-19 / Y. Shi, G. Wang, X. P. Cai et al. // *Journal of Zhejiang University Science*. – 2019. – Vol. 21, № 5. – P. 343-360. – doi: 10.1631/jzus.B2000083.
2. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome / Z. Xu, L. Shi, Y. Wang et al. // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2020. – Vol. 8, № 4. – P. 420-422. – doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
3. COVID-19 and the liver / D. Jothimani, R. Venugopal, M. F. Abedin et al. // *Journal of Hepatology*. – 2020. – Vol. 73, № 5. – P. 1231-1240. – doi: 10.1016/j.jhep.2020.06.006.
4. Chai X. Specific ACE2 Expression in Cholangiocytes May Cause Liver Damage After 2019-nCoV Infection / X. Chai, L. Hu, Y. Zhang // *BioRxiv*. – 2020. – Vol. 3, № 5. – P. 1-15. – doi: 10.1101/2020.02.03.931766.
5. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections / L. Xu, J. Liu, M. Lu et al. // *Liver International*. – 2020. – Vol. 40, № 5. – P. 998-1004. – doi: 10.1111/liv.14435.
6. Alqahtani S. A. Liver injury in COVID-19: The current evidence / S. A. Alqahtani, J. M. Schattenberg // *United European Gastroenterol Journal*. – 2020. – Vol. 8, № 5. – P. 509-519. – doi: 10.1177/2050640620924157.
7. COVID-19 and hepatic involvement: The liver as a main actor of the pandemic novel / C. Napodano, K. Pocino, A. Stefanile et al. // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2021. – Vol. 93, № 3. – P. 23-37. – doi: 10.1111/sji.12977.
8. Tian D. Hepatic complications of COVID-19 and its treatment / D. Tian, Q. Ye // *Journal of Medical Virology*. – 2020. – Vol. 92. – P. 1818-1824.
9. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review / J. M. Sanders, M. L. Monogue, T. Z. Jodlowski, J. B. Cutrell // *JAMA*. – 2020. – Vol. 323, № 18. – P. 1824-1836. – doi: 10.1001/jama.2020.6019.
10. Licata A. Adverse drug reactions and organ damage: The liver. / A. Licata // *European Journal of Internal Medicine*. – 2016. – Vol. 28. – P. 9-16.
11. COVID-19 and liver disease: mechanistic and clinical perspectives / T. Marjot, G. J. Webb, A. S. Barritt et al. // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2021. – Vol. 18, № 5. – P. 348-364. – doi: 10.1038/s41575-021-00426-4.
12. Xiang T. D. Interaction between hepatitis B virus and SARS-CoV-2 infections / Tian-Dan Xiang, Xin Zheng // *World Journal of Gastroenterology*. – 2021. – Vol. 27, № 9. – P. 782-793. – doi: 10.3748/wjg.v27.i9.782.
13. Clinical characteristics in patients with SARS-CoV-2/HBV co-infection / L. Chen, S. Huang, J. Yang et al. // *Journal of Viral Hepatitis*. – 2020. – Vol. 27, № 12. – P. 1504-1507. – doi: 10.1111/jvh.13362.

14. Longitudinal changes of liver function and hepatitis B reactivation in COVID-19 patients with pre-existing chronic hepatitis B virus infection / J. Liu, T. Wang, Q. Cai et al. // *Hepatology Research*. – 2020. – Vol. 50, № 11. – P. 1211-1221. – doi: 10.1111/hepr.13553.

15. Aldhaleei W. A. COVID-19 Induced Hepatitis B Virus Reactivation: A Novel Case From the United Arab Emirates / W. A. Aldhaleei, A. Alnuaimi, A. S. Bhagavathula // *Cureus*. – 2020. – Vol. 12, № 6. – P. 27-43. – doi: 10.7759/cureus.8645.

16. Chau T. N. SARS-associated viral hepatitis caused by a novel coronavirus: report of three cases / T. N. Chau, K. C. Lee, H. Yao // *Hepatology*. – 2020. – Vol. 39, № 2. – P. 302-310.

17. SARS-CoV-2 another kind of liver aggressor, how does it do that? / S. A. Lozano-Sepulveda, K. Galan-Huerta, N. Martinez-Acuña et al. // *Annals of Hepatology*. – 2020. – Vol. 19, № 6. – P. 592-596. – doi: 10.1016/j.aohp.2020.08.062.

Reference (Scopus)

1. Shi Y., Wang G., Cai X.P., Deng J.W., Zheng L., Zhu H.H., Zheng M., Yang B., Chen Z. J. An overview of COVID-19. *Journal of Zhejiang University Science*. 2019; 21(5): 343-360. doi: 10.1631/jzus.B2000083.
2. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J. et al Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020; 8(4): 420-422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
3. Jothimani D., Venugopal R., Abedin M.F., Kaliamoorthy I., Rela M. COVID-19 and the liver. *Journal of Hepatology*. 2020; 73(5): 1231-1240. doi: 10.1016/j.jhep.2020.06.006.
4. Chai X., Hu L., Zhang Y. Specific ACE2 Expression in Cholangiocytes May Cause Liver Damage After 2019-nCoV Infection. *BioRxiv*. 2020; 3(5): 1-15. DOI: 10.1101/2020.02.03.931766.
5. Xu L., Liu J., Lu M., Yang D., Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver International*. 2020; 40(5): 998-1004. doi: 10.1111/liv.14435.
6. Alqahtani S.A., Schattenberg J.M. Liver injury in COVID-19: The current evidence. *United European Gastroenterol Journal*. 2020; 8(5): 509-519. doi: 10.1177/2050640620924157.
7. Napodano C., Pocino K., Stefanile A., et al COVID-19 and hepatic involvement: The liver as a main actor of the pandemic novel. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2021; 40(5): 23-37. doi: 10.1111/sji.12977.
8. Tian D., Ye Q. Hepatic complications of COVID-19 and its treatment. *Journal of Medical Virology*. 2020; 92(1): 1818-1824.
9. Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B. Hepatic complications of COVID-19 and its treatment. *JAMA*. 2020; 323(18): 1824-1836. doi: 10.1001/jama.2020.6019.
10. Licata A. Adverse drug reactions and organ damage: The liver. *European Journal of Internal Medicine*. 2016; 28: 9-16.
11. Marjot T., Webb G.J., Barritt A.S., et al COVID-19 and liver disease: mechanistic and clinical perspectives. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2021; 18(5): 348-364. doi: 10.1038/s41575-021-00426-4.
12. Tian-Dan Xiang, Xin Zheng. Interaction between hepatitis B virus and SARS-CoV-2 infections. *World Journal of Gastroenterology*. 2021; 27(9): 782-793. doi: 10.3748/wjg.v27.i9.782.
13. Chen L., Huang S., Yang J., et al Clinical characteristics in patients with SARS-CoV-2/HBV co-infection. *Journal of Viral Hepatitis*. 2020; 27(12): 1504-1507. doi: 10.1111/jvh.13362.
14. Liu J., Wang T., Cai Q., Sun L. et al Longitudinal changes of liver function and hepatitis B reactivation in COVID-19 patients with pre-existing chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology Research*. 2020; 50(11): 1211-1221. doi: 10.1111/hepr.13553.
15. Aldhaleei W.A., Alnuaimi A., Bhagavathula A.S. COVID-19 Induced Hepatitis B Virus Reactivation: A Novel Case From the United Arab Emirates. *Cureus*. 2020; 12(6): 27-43. doi: 10.7759/cureus.8645.
16. Chau T.N., Lee K.C., Yao H. SARS-associated viral hepatitis caused by a novel coronavirus: report of three cases. *Hepatology*. 2020; 39(2): 302-310.
17. Lozano-Sepulveda S.A., Galan-Huerta K., et al SARS-CoV-2 another kind of liver aggressor, how does it do that? *Annals of Hepatology*. 2020; 19(6): 592-596. doi: 10.1016/j.aohp.2020.08.062.

Надійшла до редколегії 14.09.2021
Отримано виправлений варіант 14.10.2021
Підписано до друку 14.10.2021

Received in the editorial 14.09.2021
Received version on 14.10.2021
Signed in the press on 14.10.2021

¹Д. Креницкая, асп.,
¹А. Рачковская, студ.,
¹А. Савчук, д-р биол. наук,
²В. Карбовский, канд. биол. наук
¹Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
²ООО "Биофарма Плазма", Белая Церковь, Украина

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ГЕПАТИТОМ В ПРИ УСЛОВИИ КОИНФЕКЦИИ SARS-CoV-2

Пандемия COVID-19, которая началась в конце 2019 года в Китае, за несколько месяцев распространилась на все континенты, продолжается до сих пор и представляет собой серьезную угрозу для системы здравоохранения во всем мире, ведь необходимо оказывать интенсивную помощь ранее немислимому количеству пациентов. Хотя SARS-CoV-2 вызывает поражение органов дыхательной системы, однако исследования показывают, что COVID-19 – скрытый враг для нашего организма, вследствие чего страдают также другие органы, в частности печень. В литературе за небольшой период пандемии накопилось много научной информации относительно изменений биохимических параметров печени при развитии COVID-19. Наше исследование сосредоточено на клинической диагностике пациентов, страдающих гепатитом В и инфицированных SARS-CoV-2. Дополнительно было проведено исследование лиц, страдающих COVID-19, и пациентов с развитием гепатита В. Проведено сравнение исследуемых групп для выявления взаимосвязей между инфицированием SARS-CoV-2 и прогрессированием HBV. Нами установлено, что у пациентов, больных гепатитом В с коинфекцией SARS-CoV-2, наблюдаются значительные отклонения от физиологической нормы таких параметров функционирования печени, как АЛТ, АСТ, общий и прямой билирубин, однако в предельных значениях нормы находились такие показатели, как ГГТ и щелочная фосфатаза. Наше исследование показывает необходимость тщательного контроля за пациентами, которые болеют гепатитом В с коинфекцией SARS-CoV-2, а также проведения дополнительной клинической диагностики таких групп больных для выявления других параметров развития патологических состояний и улучшения подходов диагностики/лечения COVID-19 в группах высокого риска пациентов, инфицированных SARS-CoV-2.

Ключевые слова: гепатит В, SARS-CoV-2, печеночные пробы.

¹D. Krenytska, PhD stud.,
¹A. Rachkovska, Stud.,
¹O. Savchuk Dr Hab.,
²V. Karbovskiy, PhD
¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
²LLC "Biopharma plazma", Bila Tserkva, Ukraine

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE FUNCTIONAL STATE LIVER IN PATIENTS WITH HEPATITIS B UNDER CONDITIONS OF SARS-CoV-2 COINFECTION

The COVID-19 pandemic started at the end of 2019 in China. It is spreading to all continents in a few months and continuing to this day. It shows a serious threat to the healthcare system around the world, because it is necessary to provide intensive care to a previously unthinkable number of patients. Although SARS-CoV-2 causes damage to the respiratory system, research shows that COVID-19 is a hidden enemy for our body, as a result of which other organs also suffer, in particular the liver. In the literature, over a short period of the pandemic, little scientific information has accumulated regarding changes in the biochemical parameters of the liver during the development of COVID-19. Our study focused on the clinical diagnosis of patients suffering from hepatitis B and infected with SARS-CoV-2, additionally, a study was conducted of persons suffering from COVID-19 and patients with the development of hepatitis B, and a comparison of the study groups was carried out to identify relationships. links between SARS-CoV-2 infection and HBV progression. We found that in patients with hepatitis B with SARS-CoV-2 coinfection, significant deviations from the physiological norm of such parameters of liver functioning as ALT, AST, total and direct bilirubin, were observed, however, such indicators as GGT were in the limit values of the norm. and alkaline phosphatase. Our study demonstrates the need for careful monitoring of patients with hepatitis B with SARS-CoV-2 coinfection, and it is also recommended to conduct additional clinical diagnosis of such groups of patients to identify other parameters of pathological conditions and to improve diagnostic/treatment approaches in high-risk groups of patients infected with SARS-CoV-2.

Keywords: hepatitis B, SARS-CoV-2, liver function tests.

УДК 58.006:581,93(477-25)
DOI 10.17721/1728.2748.2021.87.18-26

Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна, Навчально-науковий центр "Інститут біології та медицини",
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
О. Шиндер, канд. біол. наук
Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України, Київ, Україна

ДОПОВНЕННЯ ДО СПОНТАННОЇ ФЛОРИ БОТАНІЧНОГО САДУ ІМЕНІ АКАД. О. В. ФОМІНА

Наведено результати інвентаризації дикорослих рослин на території Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна у 2021 р. Для потреб дослідження створено онлайн-проект "Biota of the O. V. Fomin Botanical Garden (Kyiv)". Охарактеризовано історичні віхи й останні здобутки у дослідженні спонтанної флори Ботанічного саду. Зазначено тенденцію до зростання кількості видів судинних рослин. Зокрема, у середині ХХ ст. на території Саду зазначалось 220 видів судинних рослин, на початку ХХІ ст. – уже 245 видів (2005 р.) та 314 видів із 215 родів і 65 родин у 2008 р. У 2015 р. зазначено вже 347 видів рослин із 223 родів, 67 родин, 4 класів, 3 відділів. За результатами досліджень у 2021 р. авторами статті виявлено ще 115 нових таксонів спонтанної флори Ботанічного саду. Наведено їх перелік, місця і дати виявлення, авторство знахідки. Уперше для флори України наведено 4 таксони адвентивних рослин: *Arabis procurrens*, *Lactuca sibirica*, *Polanisia dodecandra* subsp. *trachysperma* і *Talinum paniculatum*. Представлено їхні основні таксономічні та хорологічні характеристики, відому авторам інформацію про натуралізацію цих таксонів у інших країнах. Уперше для флори Правобережного Лісостепу та (або) урбанofлори Києва наведено *Cymbalaria muralis*, *Cyperus glomeratus*, *Rhedinum stoloniferum*, *Ranunculus acris* subsp. *friesianus*, *Tradescantia × andersoniana*. Додатково у ході дослідження виявлено 29 інтродукованих рослин із високими показниками натуралізації, які потребують подальшого моніторингу. Наведено їхній перелік і особливості натуралізації. На сьогодні повний список спонтанної флори Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна включає 524 таксони із 291 роду і 71 родини.

Ключові слова: спонтанна флора, Ботанічний сад ім. О. В. Фоміна, натуралізація, адвентивні рослини.

Вступ. Вивчення біорізноманіття залишається актуальною темою біологічних досліджень, а одними з найбільш цікавих об'єктів є інтродукційні осередки. Спонтанні флори ботанічних садів і дендропарків є складними і динамічними системами, а їх дослідження і моніторинг – важливим завданням, адже одна із основних місій ботанічних садів – створення колекцій рослин з метою збереження фіторізноманітності. Також у цих установах здійснюються дослідження з інтродукції та генетики рослин, завезених із різних ботаніко-географічних зон нашої планети. Деякі види з інших континентів згодом можуть натуралізуватись і почати активно розповсюджуватися на територіях інтродукційних центрів та поза їхніми межами. На сьогодні ця проблема набула значного масштабу та викликає занепокоєння у світі. Уже розпочато розробку та впровадження активних заходів для її розв'язання, важливість такої роботи зазначено у провідних міжнародних нормативних документах, зокрема стратегіях збереження рослин світу та Європи [9].

Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка (далі Ботанічний сад) є потужним ботанічним закладом України, де впродовж 182 років здійснюються наукові роботи з регіональної флористики, інтродукції рослин, анатомії та фізіології рослин, розробляються засади збереження рослинного світу тощо. Площа саду становить 22,5 га, його територія розділена на 2 частини – експозиційну, або паркову, включаючи територію, прилеглу до головного корпусу Київського університету (11,5 га), та наукову (11 га).

Дослідження флори Ботанічного саду розпочалося фактично із часу його заснування, проте ці розвідки не були узагальнюючими та систематичними. Гербарні матеріали, що підтверджують такі фрагментарні дослідження, зберігаються у гербаріях KWU, KWU, KWHU [2, 6, 8, 9]. Узагальнюючі праці, які б характеризували показники спонтанної флори Ботанічного саду чи його частин, до середини ХХ ст. не відомі. Існує лише декілька праць, де наведено відомості щодо розповсюдження з території установи деяких адвентів [8, 17]. Зважаючи на статусність центральної інтродукційної установи тодішнього Київського навчального округу, університетський ботанічний сад був осередком розповсюдження деяких інвазій-

них рослин, а також приваблював увагу флористів царської Росії і неодноразово був згаданий у працях ХІХ ст. Наприклад, О. Рогович [20] зазначив, що *Cyclachaena xanthiifolia* (Nutt.) Fresen. у 1842 р. поширилася із Ботанічного саду на навколишні засмічені місця, а в 1860-х рр. розповсюдилася на багаті місця старого Києва і його околиці. Дещо пізніше В. Монтезор зазначив на території університетського саду 13 видів аборигенних рослин [13]. І. Шмальгаузен [29] вказав на інвазію із Ботанічного саду *Mirabilis nyctaginea* (Michx.) MacMill. На початку ХХ ст. W. Jakubowski [35] знайшов на території саду в дикорослому вигляді *Alliaria petiolata* (M.Bieb.) Cavara & Grande, *Allium scorodoprasum* L., *Bryonia alba* L., *Bunias orientalis* L., *Impatiens parviflora* DC. та *Veronica teucrium* L.

У радянський час П. Оксіюк [15] указав для території Київського ботанічного саду здичавілі *Phedimus spurium* (M.Bieb.) 't Hart і *Physochlaina orientalis* (M.Bieb.) G.Don. У цей самий час Ю. М. Семенкевич зазначив у здичавілому вигляді для Ботанічного саду *Geranium pyrenaicum* Burm.f. і *Melica ciliata* L. [21, 22].

У середині минулого століття М. І. Малюшицька [12] опублікувала перелік дикорослих трав'яних рослин Ботанічного саду. Ця робота була знаковою і першою в Україні, яка повністю присвячена спонтанній флорі інтродукційної установи. Цей перелік налічував 220 видів судинних рослин. Надалі дослідження спонтанної флори території Саду знову проводились нерегулярно. Переважна більшість гербарних зборів тих часів зберігається у KWHU. Разом з тим процес натуралізації деяких рослин фіксувався низкою дослідників [5, 9]. Зокрема, у другій половині ХХ ст. у деяких публікаціях з'являлися фрагментарні відомості про окремі дикорослі види рослин на території університетського ботанічного саду [4, 8, 14, 19, 25, 26].

Із 2005 року було відновлено проведення систематичних спостережень за складом спонтанної флори Ботанічного саду. Перша інвентаризація сучасного різноманіття дикорослих деревних і трав'яних рослин була підготовлена В. І. Березкіною зі співавторами [2]. Загалом автори навели 245 видів спонтанної флори, які належали до 171 роду, 60 родин, 4 класів і 3 відділів. Зазначалось, що у флорі Саду значну частку становили рослини, які натуралізувалися з культури (близько 25 %), і апофіти (близько 23 %). Трохи згодом відомості щодо

складу спонтанної флори Ботанічного саду були доповнені й узагальнені Л. Губарь і Д. Якушенко [5]. Станом на 2008 р. у складі флори налічувалося вже 314 видів із 215 родів і 65 родин, було досліджено її структурні особливості. Зокрема, цими авторами показано збільшення участі адвентивних видів рослин, які становили 36 % від усієї флори та 53,8 % від її синантропної фракції. Під час вивчення інтродукційних популяцій цибулинних і бульбоцибулинних рослин у межах території Ботанічного саду М. М. Перегримом та О. П. Чекаліним було додатково виявлено 9 нових видів рослин, які раніше тут не фіксувалися [18]. Згодом В. О. Конойкова зі співавторами [9] опублікували суттєве доповнення до спонтанної флори Ботанічного саду, у якому наведено 119 видів рослин із 94 родів, 40 родин, 3 класів і 2 відділів, уперше виявлених тут у 2009–2015 рр. Найбільше нових видів було виявлено у родинях Asteraceae (19), Poaceae (15), Lamiaceae (9), які здебільшого представлені ергазіофітами. Зроблено висновок, що переважна більшість цих видів трапляється у науковій частині Саду, поодинокі, поряд із колекційними ділянками "Лікарські рослини" та "Система вищих рослин".

Станом на 2015 р. список рослин спонтанної флори Ботанічного саду налічував 347 видів із 223 родів, 67 родин, 4 класів, 3 відділів [9]. Деякі відомості про флору Саду за останні п'ять років відомі з окремих праць, гербарних матеріалів і спеціалізованих сайтів [17, 30, 38].

Метою нашої роботи було представити результати сучасної інвентаризації дикорослих рослин Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна та охарактеризувати нові флористичні знахідки на його території.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведено на території Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка протягом 2021 р. Його метою була інвентаризація спонтанної флори Ботанічного саду і виявлення нових таксонів у її складі. За основу було взято попередні роботи з дослідження дикорослих рослин Саду [2, 9, 12].

Номенклатуру наведено за базою GBIF [33]. У складі спонтанної флори ми розглядаємо натуралізовані чужорідні рослини, які виявлені у спонтанних місцезростаннях. Більш детально питання розмежування таксонів спонтанної і культурної флори висвітлено у попередній статті одного з авторів [27]. У більшості випадків деревні ергазіофіти відносили до спонтанної флори при виявленні їх дорослих самосівних особин на відстані понад 100 м від дорослих дерев, а трав'яні ергазіофіти – на відстані понад 50 м.

Для потреб структуризації переліку спонтанної флори таксони з її складу розподілено на такі імміграційні групи. **Місцеві** – таксони, природний ареал яких охоплює територію дослідження. Тут слід зазначити, що

в попередній роботі із цієї теми [5] було зроблено важливе зауваження, що в межах свого ареалу вид не може бути адвентивним. Такий підхід, хоча і має дискусійний характер, однак значно спрощує дослідження спонтанних флор інтродукційних установ, тому в цій роботі ми його дотримуємося. **Археофіти** – адвентивні таксони, які спонтанно проникли на територію флори до XV ст. включно. **Ксенофіти** – адвентивні таксони, які самостійно проникли на територію флори після настання XVI ст. **Втікачі** (втікачі з культури) – адвентивні таксони, які були інтродуковані на територію флори (після настання XVI ст.), а згодом натуралізувалися [41].

Для потреб дослідження на базі ресурсу iNaturalist.com створено проєкт "Biota of the O. V. Fomin Botanical Garden (Kyiv)" [30]. У його рамках висвітлено спостереження за культурною і спонтанною флорами Ботанічного саду. Зразки деяких таксонів, наведених у статті, передано до гербаріїв Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна (KWHU) і Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України (KWHNA). Крім власних результатів, у статті використано кілька спостережень інших авторів, на які є відповідні посилання.

Результати дослідження. Ботанічний сад імені акад. О. В. Фоміна є одним із центральних інтродукційних осередків України. Історія його створення і розбудови почалася із 1839 р. На початку своєї історії він був навчальною базою Університету Святого Володимира, а нині – Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Із ним пов'язані імена видатних вітчизняних ботаніків XIX–XX ст.: А. Л. Анджейовського, Р. Е. Траутфеттера, О. С. Роговича, І. Ф. Шмальгаузена, О. В. Фоміна, О. І. Соколовського та ін. [2].

У наш час процеси адвентизації флори значно пришвидшилися, що пов'язано зі зростаючим антропогенним впливом на природні ділянки, кліматичними змінами, активізацією міжнародних перевезень тощо. Одним із основних імміграційних шляхів поповнення адвентивної фракції флори є натуралізація чужорідних рослин, яка найбільш активно виявляється в інтродукційних осередках – ботанічних садах і дендропарках. Спонтанні флори інтродукційних установ характеризуються високою динамічністю і включають високу частку втікачів із культури, серед яких окремі види схильні до експансивного розповсюдження. Проте досвід вивчення спонтанних флор інтродукційних установ свідчить, що більша частина інтродуцентів за межами культурних ділянок мають невисокі показники натуралізації і не виявляють інвазійної активності, а із часом деякі їхні спонтанні місцезростання навіть зникають [27, 28]. Такі рослини належать до нестабільного компонента флори.

Нижче наводимо перелік таксонів, зібраних та ідентифікованих нами впродовж 2021 р.

1. Нові таксони, виявлені на території Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна у дикорослому стані

GYMNOSPERMS

Taxus baccata L.: втікач, – н. ч., зрідка розсіяний самосів, 13.07.2021!!; п. ч., розсіяно у вологих тінистих ділянках, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881109).

ANGIOSPERMS (MONOCOTS)

Allium altissimum Regel: втікач, – н. ч., спорадично; розсівається, 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/79136634; inaturalist.org/observations/95871277).

Allium oleraceum L.: місцевий, – н. ч. – колекційні ділянки, спорадично, 17.07.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/87400735).

Allium tuberosum Rottler ex Spreng.: втікач, – н. ч., спонтанний самосів, 12.08.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/90978459).

Bromus carinatus Hook. & Arn.: втікач, – п. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936678).

Calamagrostis epigejos (L.) Roth: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!

Carex divulsa Stokes: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/95871284).

Commelina communis L.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!; п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881115).

Cyperus glomeratus L.: ксенофіт, – н. ч., на будмайданчику перед адмінбудівлею, до 10 особин, занесено, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881187).

Elymus caninus (L.) L.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!!; 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936686).

Hordeum murinum L. subsp. *murinum*: археофіт, – уздовж доріжок, розсіяно.

Lolium giganteum (L.) Darbysh.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!; п. ч., спорадично, 31.08.2021!!

Polygonatum latifolium (Jacq.) Desf.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!!

Sclerochloa dura (L.) P.Beauv.: археофіт, – н. ч., на будмайданчику перед адмінбудівлею, 31.08.2021!!

Setaria verticillata (L.) P.Beauv.: археофіт, – н. ч., 13.07.2021!!

Tradescantia × *andersoniana* W.Ludw. & Rohweder (= *T.* × *hybrida* hort.): втікач, – н. ч., 9.06.2021!!

ANGIOSPERMS (EUDICOTS)

Acer campestre L.: місцевий, – п. ч., 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881112).

Achillea collina (Wirtg.) Becker ex Rchb.: місцевий, – розсіяно, 06.07.2021!!

Achillea pannonica Scheele: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!!

Aethusa cynapium L.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936688).

Agrimonia procera Wallr.: місцевий, – н. ч., розсіяно в різних місцях, 9.06.2021!!

Alcea rugosa Alef.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/97936712)

Amaranthus albus L.: ксенофіт, – н. ч., на будмайданчику перед адмінбудівлею, 31.08.2021!!

Amaranthus blitoides S.Watson: ксенофіт, – н. ч., на будмайданчику перед адмінбудівлею, 31.08.2021!!

Amaranthus cruentus L.: втікач, – н. ч., 15.09.2017, М. Перегрим (inaturalist.org/observations/50127292); н. ч. і п. ч., 13.07.2021!!

Apocynum cannabinum L.: втікач, – розсівається, 12.05.2019, С. Мосякін (inaturalist.org/observations/71697608); н. ч., 9.06.2021; 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936658).

Aquilegia vulgaris L.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!; п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881126).

Arabis procurrens Waldst. & Kit.: втікач, – спорад. по наук. ч-ні Саду, 17.05.2021, В. П. Коломійчук (KWHU); н. ч., здичавіло, 9.06.2021!!

Arctium × *ambiguum* (Celak) Nym.: місцевий нотовид, – п. ч., 31.08.2021!!

Arctium minus (Hill) Bernh.: місцевий, – п. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936747).

Arctium × *nothum* (Ruhmer) J.Weiss: місцевий нотовид, – п. ч., 31.08.2021!!

Armoracia rusticana P.Gaertn., B.Mey. & Scherb.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!!

Atriplex oblongifolia Waldst. & Kit.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/95871282).

Campanula bononiensis L.: місцевий, – п. ч., 13.07.2021!!

Catalpa speciosa (Warder ex Barney) Warder ex Engelm.: втікач, – н. ч. – біля оранжереї тропічних рослин і у прилеглому деревостані, розріджений підріст, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881176).

Celastrus orbiculatus C.P.Thunberg ex A.Murray: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!

Celtis occidentalis L. var. *pumila* (Muhl.) Pursh: втікач, – н. ч., розсіюється із насаджень, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936695).

Chaenorhinum minus (L.) Lange: місцевий, – н. ч., на засміченому місці біля адмінбудівлі Саду, 13.07.2021!!

Chenopodium opulifolium Schrad.: археофіт, – п. ч., 13.07.2021!!; там само, 11.08.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/90858945).

Coreopsis grandiflora Hogg ex Sw.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!!; 17.07.2021!! (inaturalist.org/observations/87380820; inaturalist.org/observations/97936674).

Cornus sanguinea L. subsp. *australis* (C.A.Mey.) Jáv. (= *Swida australis* (C.A.Mey.) Pojark. ex Grossh.): втікач, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/95672602).

Cornus sanguinea subsp. × *hungarica* (Kárpáti) Soó (= *Swida hungarica* (Kárpáti) Soják): втікач, спонтанний гібрид, – н. ч., 9.06.2021!!

Corylus avellana L.: місцевий, – п. ч., 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881121).

Corylus pontica K.Koch: втікач, – п. ч., 13.07.2021!!

Crataegus coccinea L.: втікач, – п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/97936649)

Crataegus mollis (Torr. & A.Gray) Scheele: втікач, – н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936745).

Cymbalaria muralis G.Gaertn., B.Mey. & Scherb.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!!; те саме, 17.07.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/87379351).

Datura stramonium L. f. *tatula* (L.) D. Geerinck & E. Walravens: ксенофіт, – н. ч., по краю доріжки, 15.09.2017, М. Перегрим, – det. Д. Давидов (inaturalist.org/observations/50127456).

Dianthus armeria L.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!

Diploxys tenuifolia (L.) DC.: ксенофіт, – н. ч., 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881206).

Erechtites hieracifolia (L.) Raf. ex DC.: ксенофіт, – н. ч., на обочині доріжки біля входу до наукової частини Саду, занесено, 25.08.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/92446897).

Euonymus verrucosus Scop.: місцевий, – п. ч., 19.09.2021, О. І. Шиндер (inaturalist.org/observations/95672608).

Euphorbia angulata Jacq.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/97936740).

Galega orientalis Lam.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936681).

Galeopsis bifida Voenn.: місцевий, – п. ч., 31.08.2021!!

Helianthus annuus L.: втікач, – п. ч., по дну великої балки, 31.08.2021!!

Hypochaeris radicata L.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!!; там само (inaturalist.org/observations/83486636).

Juglans cinerea L.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!

- Juglans mandshurica* Maxim.: втікач, – п. ч., розсіяний підріст, 19.09.2021, О. І. Шиндер (inaturalist.org/observations/95672621).
- Juglans nigra* L.: втікач, – п. ч., поодинокий самосів, 19.09.2021, О. І. Шиндер (inaturalist.org/observations/95672618).
- Lactuca sibirica* (L.) Maxim.: втікач, – 8.06.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/82318147); здичавіло по території наукової частини у кількох місцях, 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/97936647).
- Linum usitatissimum* L.: втікач, – н. ч., на обочині доріжки, 31.08.2021, В. П. Коломійчук!!
- Lobularia maritima* (L.) Desv.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!; там само (inaturalist.org/observations/83490153).
- Malus domestica* Borkh.: втікач, – п. ч., 31.08.2021!!
- Melissa officinalis* L.: втікач, – н. ч., по краю бордюру, 4.08.2016, М. Перегрим (inaturalist.org/observations/50805547); н. ч., 13.07.2021!!; п. ч., по дну великої балки, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881143).
- Memoremea scorpioides* (Haenke) A.Otero, Jim.Mejías, Valcárcel & P.Vargas (= *Omphalodes scorpioides* (Haenke) Schrank): місцевий, – ділянка лікарських рослин, 11.05.2021, В. П. Коломійчук (KWHU).
- Morus alba* L.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!!
- Nicotiana tabacum* L.: втікач, – трансформ. ділянка перед адміністративним корпусом, зрідка, 13.08.2021, В. П. Коломійчук (передано в KWHU); те саме, на будмайданчику занесено, 12.08.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/90858978).
- Nigella damascena* L.: втікач, – н. ч., спорадично як бур'ян, 9.06.2021!!; там само (inaturalist.org/observations/82309941).
- Perilla frutescens* (L.) Britton var. *crispa* (Thunb.) H.Deane: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!; п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881095).
- Persicaria lapathifolia* (L.) Gray subsp. *pallida* (With.) S.Ekman & T.Knutsson: місцевий, – п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!!
- Phedimus stoloniferus* (S.G.Gmel.) 't Hart: втікач, – н. ч., спорадично, окремі куртини по газонах, 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/95871279).
- Phytolacca acinosa* Roxb.: втікач, – н. ч., розсіяно, 13.07.2021!! – Note. Зустрічається частіше від *P. americana* L., який уже вказувався для Саду раніше (Ботанічний..., 2007) (inaturalist.org/observations/97936743; inaturalist.org/observations/95881120).
- Pilosella floribunda* (Wimm. & Grab.) Fr.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/95871271).
- Pimpinella saxifraga* L.: місцевий, – п. ч., 9.06.2021!!
- Polanisia dodecandra* (L.) DC. subsp. *trachysperma* (Torr. & A.Gray) Iltis (= *Cleome trachysperma* (Torr. & A.Gray) Pax & K.Hoffm.): втікач, ефемерофіт, – н. ч., спонтанно по краю будмайданчика, fl., 17.08.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/91513715).
- Polygonum aviculare* L. subsp. *neglectum* (Besser) Arcang.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/95871276; inaturalist.org/observations/97936664).
- Populus canadensis* Moench: втікач, – н. ч., молодий підріст навколо оранжереї, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881177).
- Populus canescens* Sm.: місцевий, – п. ч., насадження і підріст, 31.08.2021!!
- Prunus armeniaca* L.: втікач, – п. ч., 13.07.2021!!
- Prunus avium* (L.) L.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!
- Prunus cerasifera* Ehrh.: втікач, – п. ч. і н. ч., 9.06.2021!!
- Prunus cerasifera* f. *pissardii* (Carrière) Koehne: втікач, – н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936667).
- Prunus cerasus* L.: втікач, – п. ч., 19.09.2021!!
- Prunus padus* L.: місцевий, – п. ч., 31.08.2021!!
- Prunus tomentosa* Thunb.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936711)
- Ranunculus acris* L. subsp. *friesianus* (Jordan) Syme (= *R. stevenii* Andrz.): втікач, – н. ч., біля коніферетуму, на газоні, дико, 13.07.2021!!
- Raphanus sativus* L.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!
- Rhamnus cathartica* L.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!!
- Rosa canina* L.: місцевий, – розсіяно, 9.06.2021!!
- Rosa corymbifera* Borkh.: місцевий, – розсіяно, 9.06.2021!!
- Rosa podolica* Tratt. (= *R. biserrata* Mérat): місцевий, – п. ч., дико, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881166).
- Rumex crispus* L.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!
- Rumex obtusifolius* L. subsp. *sylvestris* (Lam.) Čelak.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!
- Rumex patientia* L.: втікач, – н. ч., 9.06.2021!!
- Salix caprea* L.: місцевий, – п. ч., 31.08.2021!!
- Salix triandra* L.: місцевий, – п. ч., 31.08.2021!!
- Sedum sexangulare* L.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!!
- Solanum lycopersicum* L.: втікач, – н. ч., на будмайданчику перед адмінбудівлею Саду, 31.08.2021!!
- Solanum nigrum* L. subsp. *schultesii* (Opiz) Wessely: ксенофіт, – н. ч., 13.07.2021!!
- Sonchus arvensis* L. subsp. *arvensis*: археофіт, – н.ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936704).
- Stachys sylvatica* L.: місцевий, – п. ч., дико, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881163).
- Symphytum peregrinum* Ledeb.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!!
- Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.: втікач, – біля адміністративного корпусу, у тріщинах асфальту з пн. боку будівлі, поруч із буд. майданчиком, кілька особин, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881224).
- Tilia × europaea* L.: втікач, – н. ч., поодинокі, 9.06.2021!!; п. ч., розсіяно, 31.08.2021!!
- Valerianella carinata* Loisel.: ксенофіт, – н. ч., як бур'ян, 17.05.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/79532084).
- Verbascum phlomidoides* L.: місцевий, – н. ч., 13.07.2021!!
- Veronica arvensis* L.: археофіт, – н. ч., 9.06.2021!!

Veronica officinalis L.: місцевий, – н. ч., 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/83490792; inaturalist.org/observations/95871289).

Veronica sublobata M.Fischer: місцевий, – п. ч., 9.04.2021, leg. Liu, – det. Д. Давидов (inaturalist.org/observations/73963870). – Note. Раніше для Саду неодноразово вказувалася *V. hederifolia* L., імовірно саме замість цього виду.

Vicia sativa L. subsp. *nigra* (L.) Ehrh. (= *V. angustifolia* L.): ксенофіт, – розсіяно, 9.06.2021!!

Vicia sepium L.: місцевий, – п. ч., 13.07.2021!!

Vicia tetrasperma (L.) Schreb.: археофіт, – п. ч., 13.07.2021!!

Viola sororia Willd.: втікач, – п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881138); н. ч., уздовж бордюрів і по газонах, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881227).

Vitis vulpina L.: втікач, – н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936718).

Xanthium albinum (Holuby) Holub: ксенофіт, – п. ч., по тальвегу великої балки, 31.08.2021!!

Скорочення: "п. ч." – паркова частина, "н. ч." – наукова частина; "!!" – виявлено авторами при спільному дослідженні.

Загалом на території Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна у 2021 р. було виявлено 115 нових таксонів дикорослих рослин (видів і внутрішньовидових таксонів) із 87 родів та 43 родин. Велика кількість серед них належать до місцевих видів рослин – як попередньо висаджені в Саду рослини, які сформували спонтанний підріст, так і "пульсуючі" види, які мігрували із прилеглих територій міста. Були зазначені й такі види, що, імовірно, здавна спонтанно зростали на території Саду, але не були помічені раніше, зокрема *Atriplex oblongifolia*, *Polygonum aviculare* subsp. *neglectum*, види родів *Rosa* і *Salix* тощо. У ході тривалої інтродукційної роботи в Ботанічному саду були зафіксовані чимало нових втікачів із культури, зокрема *Allium altissimum*, *Aposynum cannabinum*, *Celastrus orbiculatus*, *Galega orientalis*, *Taxus baccata* та ін. Своєрідними осередками заносних рослин стали будівельний майданчик біля адміністративного корпусу, де були виявлені *Cyperus glomeratus*, *Nicotiana tabacum*, *Sclerochloa dura* та ін., а також волога балка в парковій частині, куди звозились рештки рослин (у т. ч. і з оранжерей Саду) для компостування і де було зазначено багато здичавілих інтродуцентів на різних етапах натуралізації.

2. **Нові таксони адвентивної флори.** У ході дослідження нами було виявлено низку нових цікавих таксонів, зокрема, уперше для адвентивної флори України наводимо: *Arabis procurrens*, *Lactucasibirica*, *Polanisia dodecandra* subsp. *trachysperma* і *Talinum paniculatum*. Характеристика окремих таксонів наводимо більш детально.

***Arabis procurrens* – Гусимець вибігаючий** (Brassicaceae). Південноєвропейський монотанний вид, природно поширений на Балканах та в південних Карпатах. Спорадично вирощується як декоративна ґрунтопокривна рослина у Європі та Північній Америці [33]. Багаторічна трав'яниста рослина заввишки до 10–12 см із дрібними розетками і довгими столонами, чим відрізняється від інших видів роду. В Україні відомий у колекціях живих рослин деяких інтродукційних установ [2, 3, 6], але як адвентивний раніше не наводився [41]. Як здичавілий наводиться для центральноєвропейських країн: Німеччини, Словаччини, Чехії [40]. У Східній Європі був зібраний у здичавілому стані у Москві (Росія), на території Тимрязевської с/г академії [10]. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *A. procurrens* розсіяно зустрічається в науковій частині на колекційних ділянках, по яких розповсюдився завдяки інтенсивному вегетативному розмноженню. У складі адвентивної фракції флори це нестабільний компонент, колонофіт.

***Lactuca sibirica* – Молокан сибірський** (Asteraceae). Палеобореальний вид, розповсюджений від Скандинавії до Японії і Далекого Сходу [23, 40]. *L. sibirica* близький до *L. tatarica* (L.) С.А.Меу, зокрема також має блакитні

пелюстки оцвітину, і відрізняється повністю голими стеблами, тонкими, переважно цілісними листками і низкою інших ознак [23]. Дані про інтродукцію виду і спонтанне поширення в Україні нам не відомі, але в радянських джерелах *L. sibirica* вказаний для Тернопільської області – "1 лист из окр. Тернополя" [7], або без уточнення [23]. У вітчизняних джерелах цей вид не вказується [16, 25] або наведений як сумнівний [37]. Припускаємо, що вказівка з околиць Тернополя могла бути наведена за старим гербарним зразком із LE, утім, його походження залишається невідомим. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *L. sibirica* розсіяно зустрічається в колекційних насадженнях наукової частини. Його походження тут не відоме, але, очевидно, пов'язане з інтродукцією.

***Polanisia dodecandra* subsp. *trachysperma* – Полянція шорстконасінна** (Cleomaceae). Північноамериканський таксон, один із трьох підвидів *P. dodecandra* [32]. Рослини *P. dodecandra* s.l. габітуально подібні до широко розповсюджених представників роду *Cleome* – це прямостоячі малорічні трави із трійчастими листками і білими невеликими пелюстками. Але для роду *Polanisia* характерні більш численні тичинки (8–32) і плоди на коротких гінофорах (0–14 мм завдовжки). Від інших підвидів *P. dodecandra* subsp. *trachysperma* відрізняється більш довгими пелюстками, 6–14 мм завдовжки; довгими тичинками, які вдвічі або більше перевищують оцвітину; ланцетними (до яйцеподібних) приквітниками і загостреними (до тупих, але не округлих) верхівками листків.

У Європі *P. dodecandra* зрідка культивується, хоча відомостей про нього дуже мало і його окремі підвиди частіше не вказуються [33]. В Україні *P. dodecandra* s.l. відомий лише у кількох наукових колекціях живих рослин [6]. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна цей таксон не культивується разом з іншими літниками. Як адвентивний *P. d.* subsp. *trachysperma* наведений для східних штатів (США) і провінції Онтаріо (Канада) у Північній Америці [32], а у Європі цей таксон натуралізувався у північній Італії [34]. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *P. d.* subsp. *trachysperma* є ергазіофітофітом.

***Talinum paniculatum* – Талінум волотистий** (Talinaceae). Центральноамериканський вид, природно поширений від південної частини США до Бразилії [33, 40]. Він належить до сукулентів, а морфологічні особливості його та інших близьких видів наведено у спеціальній літературі [36]. Широко розповсюджений у культурі, насамперед у тропічних і субтропічних країнах на всіх континентах, але в центральній і північній Європі в доступних джерелах не наводиться [33]. В Україні *T. paniculatum* відомий виключно в культурі закритого ґрунту, зокрема вирощується в колекції тропічних і субтропічних рослин Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна [2] та деяких інших установах. У Сирецькому дендрологічному парку загальнодержавного значення *T. paniculatum* було

інтродуковано насінням у колекцію рослин закритого ґрунту у 2018 р., а в наступні роки цей вид почав розсіватися по оранжереї (усне повідомлення С. М. Михайлик, 09.2021). У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна у 2021 р. кілька рослин *T. paniculatum* виросло по краю будмайданчика біля адміністративного корпусу. Очевидно, насіння цього виду спонтанно потрапило за межі оранжереї і його слід розглядати як нестабільний компонент флори, ергазіофіт.

***Cymbalaria muralis* – Цимбаларія мурова** (Plantaginaceae). Середземноморський вид, який широко розповсюджений у декоративній культурі в Америці та Європі, рідко в інших частинах світу [33, 40]. Як адвентивний зустрічається майже по всій Європі, цит. за [10], а в Україні як здичавілий наводився для Закарпаття та Криму [16, 23], а також спонтанної флори Ботанічного саду ЛНУ ім. Франка у м. Львові [1]. У Києві спонтанно зростаюча *C. muralis* була зібрана О. І. Шиндером у Голосіївському районі у тріщині фундаменту поліклініки у 2020 р. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *C. muralis* зростає по затінених тріщинах фундаменту головного корпусу тропічної оранжереї і навколо нього – вздовж доріжок. У складі флори Саду виступає ергазіофітом.

***Cyperus glomeratus* – Смикавець скупчений** (Cyperaceae). Південноєвразійський вид, природно поширений у регіоні давнього Середземномор'я і південно-східній Азії. В Україні *C. glomeratus* як аборигенний вид зустрічається у степу по долинах великих річок [16, 23, 26]. Для лісостепу *C. glomeratus* наводиться без уточнення із середнього Придністров'я [11], а вказівки на нього з більш північних районів нам не відомі. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *C. glomeratus* був виявлений на будмайданчику разом з іншими заносними рослинами і є тут ксенофітом. Імовірно, заносні колонії цього виду нині наявні в Києві або Київській області.

***Phedimus stoloniferus* – Очиток пагононосний** (Crassulaceae). Кавказько-іранський вид, що культивується майже по всій Європі, рідше в Північній Америці [33]. В Україні зустрічається у багатьох ботанічних колекціях [2, 3, 6]. Як адвентивний *P. stoloniferus* наводиться у Східній Європі для урбанофлор Москви і Вороніжа (Росія) [10, 24]. В Україні *P. stoloniferus* у здичавілому стані відомий нам за гербарним зразком: "м. Львів, вул. Тургенєва, 73, територія заводу "Кінескоп". На газоні", 25.07.2005, leg. М. В. Гаврилюк, – det. О. Т. Кузарін (sub *Sedum spurium* Bieb.), – det. 10.2019, О. І. Шиндер (sub *P.s.*) (LWS 116349). У флорі Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна *P. stoloniferus* є колонофітом.

***Ranunculus acris* subsp. *friesianus* – Жовтець Фріза** (Ranunculaceae). Центральноевропейський таксон, природно поширений в Україні у лісовій зоні. У центральній Україні відомий як дикорослий у Національному дендропарку "Софіївка" (м. Умань) (inaturalist.org/observations/96556048), де, імовірно, є здичавілим. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *R. a.* subsp. *friesianus* є втікачем із культури і нині спорадично трапляється на відкритих трав'яних місцях у науковій частині.

***Tradescantia × andersoniana* – Традесканція Андерсона** (Commelinaceae). Збірний нотовид, який об'єднує культивари складного гібридогенного походження, отримані з участю *T. virginiana* L. Садові гібриди традесканції культивуються у країнах із помірним кліматом, але в Україні ця культура зустрічається у декоративному садівництві нечасто. Ботанічна назва *T. × andersoniana* W.Ludw. & Rohweder певний час вважалася недійсною через відсутність опису [31, 32], але нині є валідною [33, 40]. Дичавіння садових традесканцій зазначалося як у Північній Америці [32], так і у Західній Європі [40]. В Україні у декоративному садівництві відомі як *T. × andersoniana*, так і *T. virginiana* [2, 6], але вказівки на *T. virginiana* в умовах інтродукції переважно належать до садових гібридів [31]. Як втікач із культури *T. virginiana* вказувалася раніше для урбанофлори Києва [39] та України загалом [41], але не виключено, що ці вказівки належать саме до садової традесканції. Ми раніше навели *T. × andersoniana* для спонтанної флори Сирецького дендрологічного парку [28]. У Ботанічному саду ім. О. В. Фоміна *T. × andersoniana* розсіяно зустрічається як бур'ян у колекційних насадженнях наукової частини і є ергазіофітом.

3. Натуралізовані інтродуценти, що дичавіють у місцях посадки. У ході дослідження до окремого списку були внесені ергазіофіти з виявленими високими показниками натуралізації: вони формують схоже насіння і дають самосів, розростаються в місцях садіння, утворюють монодомінантні колонії тощо. Такі рослини ми не маємо підстав відносити до складу спонтанної флори, але вони потребують моніторингу для подальшої натуралізації в умовах Ботанічного саду і регіону загалом. Деякі із цих рослин уже відомі як адвентивні в окремих регіонах (флорах) України, а загалом такі відомості можуть зацікавити інших дослідників, які вивчають адвентивні види та урбанофлори.

Abies alba Mill.: н. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936722).

Alcea rosea L.: н. ч., формує самосів, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936697).

Allium carinatum L.: п. ч., 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936731).

Allium sphaerocephalon L.: н. ч., 9.06.2021!!

Berberis vulgaris L.: дає самосів у місцях культивування, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936739).

Carya cordiformis (Wangenh.) C.Koch: н. ч., 13.07.2021!!

Catalpa ovata G.Don: н. ч., 13.07.2021!!

Cotoneaster acutifolius Turcz.: н. ч., 9.06.2021!!

Cotoneaster nummularius Fisch. & С.А.Мей.: дає самосів у місцях культивування, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936669).

Cotoneaster suavis Pojark.: дає самосів у місцях культивування, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936676).

Crataegus crus-galli L.: формує самосів біля дорослого дерева, 19.09.2021!!

Delphinium cuneatum Steven ex DC.: Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна, н. ч., за системою біля колекції ліщин на купах відходів рослин, рідко, 16.06.2018, Колемійчук В. П. (KWHU).

Eranthis hyemalis (L.) Salisb.: формує самосів у місці культивування (inaturalist.org/observations/71859135).

Euphorbia myrsinites L.: дає самосів у місцях культивування, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936738).

Galium semiamictum Klokov: н. ч., на альпінарії, можливо підсаджений або був неспеціально завезений при інтродукції, 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/97936725).

Hemerocallis fulva (L.) L.: п. ч., по тальвегу великої балки, невелика куртина, занесено із рослинними рештками, 31.08.2021!!

Heracleum stevenii Manden.: н. ч., інтродукційна популяція, рослини різняться ступенем опушення, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/95871288; inaturalist.org/observations/97936702).

Hieracium bifidum aggr.: н. ч., розповсюджується навколо місця садіння у коніферетумі, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936732). – Note. Потребує перевизначення в подальші роки, але загальний характер опушення рослин указує на їх приналежність саме до групи *H. bifidum*, а не до поширених у нас природно рослин із *H. murorum* aggr.

Isatis tinctoria L.: н. ч., насивається біля місця культивування (inaturalist.org/observations/79513273).

Leucanthemum ircutianum (Turcz.) DC.: н. ч., альпінарій і ділянки навколо нього, 9.06.2021!!

Menispermum dauricum DC.: н. ч., біля ділянок культивування, 9.06.2021!! (inaturalist.org/observations/97936650).

Metasequoia glyptostroboides H.H.Hu & W.C.Cheng: н. ч., розсівається навколо дорослих дерев, переважно по тіні у вологих куточках, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881185).

Paulownia tomentosa (Thunb.) Steud.: навколо оранжереї, самосівний підріст неподалік дорослих дерев, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881178).

Petrorhagia prolifera (L.) P. W. Ball & Heywood: н. ч., розсівається на колекційній ділянці, 14.07.2021, В. П. Коломійчук!!; те саме, 10.08.2021, В. П. Коломійчук (inaturalist.org/observations/90627382).

Quercus castaneifolia C.A.Mey.: п. ч., по тальвегу великої балки, самосів, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881158).

Rudbeckia hirta L. var. *hirta*: дає самосів у місцях культивування, 13.07.2021!! (inaturalist.org/observations/97936691).

Ruta graveolens L.: дає самосів у місцях культивування, 13.07.2021!!; н. ч., самосів на будмайданчику перед адмінбудівлею, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/97936671).

Sedum hispanicum L.: інтродукційна популяція на колекційній ділянці, 1.06.2021 (inaturalist.org/observations/81166237).

Vigna radiata (L.) R.Wilczek: п. ч., по тальвегу великої балки, на рослинних рештках, 31.08.2021!! (inaturalist.org/observations/95881130).

Висновки. Отже, за результатами інвентаризації дикорослих рослин на території Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна у 2021 р. виявлено 115 нових таксонів спонтанної флори. Усього спонтанна флора Саду включає 524 таксони із 291 роду та 71 родини, зафіксовані за весь час його існування. Уперше для флори України наведено 4 таксони адвентивних рослин: *Arabis procurrens*, *Lactucasibirica*, *Polanisia dodecandra* subsp. *trachysperma* і *Talinum paniculatum*. Уперше для флори Правобережного Лісостепу та (або) урбанofлори Києва наведено *Cymbalaria muralis*, *Cyperus glomeratus*, *Phedimus stoloniferus*, *Ranunculus acris* subsp. *friesianus*, *Tradescantia* × *andersoniana*. Також у ході дослідження виявлено 29 інтродукованих рослин із високими показниками натуралізації, які потребують подальшого моніторингу. Отримані відомості будуть використані в іншій роботі із узагальнення сучасного складу і структури спонтанної флори Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна. Окрім того, отримані дані далі будуть використані для практичного продовження системи моніторингу розповсюдження чужорідних рослин на території Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна.

Список використаних джерел

1. Борсукевич Л. М. Спонтанна флора Ботанічного саду Львівського національного університету імені Івана Франка / Л. М. Борсукевич, А. І. Прокопів // Інтродукція рослин. – 2012. – № 3. – С. 57–61.
2. Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна. Каталог рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2007.
3. Каталог трав'янистих рослин Сирецького дендрологічного парку: довідкове видання / С. А. Глухова, О. І. Шиндер, Л. І. Ємець, С. М. Михайлик. – Полтава: Полтавський літератор, 2016.
4. Поширення адвентивних видів роду *Veronica* L. у Середньому Придніпров'ї / Т. В. Голяченко, М. М. Бортняк, Ю. О. Войтюк, Г. К. Смик // Укр. ботан. журн. – 1992. – Т. 49, № 3. – С. 93–94.
5. Губарь Л. Спонтанна флора Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка / Л. Губарь, Д. Якушенко // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. – 2009. – № 22–24. – С. 113–115.
6. Каталог декоративних трав'янистих рослин ботанічних садів і дендропарків України [Електрон. вид.] / за ред. С. П. Машковської. – К., 2015.
7. Кирпичников М. Э. Род 1654. Латук, салат – *Lactuca* L. / М. Э. Кирпичников // Флора СССР. – М.; Л.: Наука, 1964. – Т. 29. – С. 274–317.
8. Колісниченко О. М. Здатність деревних інтродуцентів до інвазії / О. М. Колісниченко // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Сер. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. – 2005. – № 8. – С. 27–31.

9. Конайкова В. О. Доповнення до списку спонтанної флори Ботанічного саду імені академіка О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка / В. О. Конайкова, М. М. Перегрим, Л. М. Губарь // Біологічні студії. – 2015. – Т. 9, № 2. – С. 159–168.

10. Адвентивная флора Москвы и Московской области / С. Р. Майоров, В. Д. Бочкин, Ю. А. Насимович, А. В. Щербаков. – М.: КМК, 2012.

11. Новосад В. В. Фіто- та флорорізноманіття Середнього Придністров'я. Судинні рослини / В. В. Новосад, Л. І. Крицька. – К.: Фітон, 2010. – Т. 1.

12. Малюшицька М. І. Дикоростуча трав'яниста флора ботанічного саду Київського державного університету ім. Т. Г. Шевченка. КДУ ім. Т. Г. Шевченка / М. І. Малюшицька // Наукові записки КДУ. – 1948. – Т. 7, вип. 6. – С. 85–97.

13. Монтезоз В. Обзорение растений, входящих в состав флоры губерний Киевского учебного округа, Киевской, Вольнской, Подольской, Черниговской и Полтавской: записки Киевского общества естествоиспытателей / В. Монтезоз. – 1886. – Т. 8, вып. 1 (ч. 1). – С. 1–144; 1887. – Т. 8, вып. 2 (ч. 2). – С. 185–288; 1888. – Т. 9, вып. 1–2 (ч. 3). – С. 119–198; 1890. – Т. 10, вып. 3 (ч. 4). – С. 457–546.

14. Мосякін С. Л. Нові знахідки адвентивних рослин у флорі Київської міської агломерації / С. Л. Мосякін, О. Г. Яворська // Укр. ботан. журн. – 2001. – Т. 58, № 4. – С. 493–498.

15. Оксіюк П. До питання про поширення адвентивних рослин на Україні: наукові записки. Орган Київських науково-дослідчих кафедр / П. Оксіюк. – К., 1924. – Т. 2. – С. 121–129.

16. Определитель высших растений Украины / под ред. Ю. Н. Прокудина. – К.: Наукова думка, 1987.

17. Орлов О. О. Перші випадки здичавіння *Macleaya cordata* (Willd.) R.Br. (Paraveraceae) в Україні / О. О. Орлов, Л. М. Губарь // Укр. ботан. журн. – 2009. – Т. 66, № 4. – С. 550–553.

18. Перегрим М. М. Популяції цибулинних і бульбоцибулинних рослин на території Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна (Київ, Україна) / Інтродукція, збереження та моніторинг рослинного різноманіття: Мат. міжн. наук. конф. до 175-річчя Ботанічного саду імені акад. О. В. Фоміна КНУ імені Т. Шевченка (20–24 травня 2014 р.) / М. М. Перегрим, О. П. Чекалін. – К., 2014. – С. 148–149.

19. Протопопова В. В. Адвентивні рослини Лісостепу і Степу України / В. В. Протопопова. – К.: Наукова думка, 1973.

20. Рогович А. Обзорение семенных и высших споровых растений, входящих в состав флоры губерний Киевского учебного округа: Вольнской, Подольской, Киевской, Черниговской и Полтавской / А. Рогович. – К.: Унив. тип., 1869.

21. Семенкевич Ю. М. Деякі доповнення до флори околиць Києва / Ю. М. Семенкевич // Вісник Київського Ботанічного саду. – 1925. – Вип. 3. – С. 35–46.

22. Семенкевич Ю. М. Деякі доповнення до флори околиць Києва (продовження) / Ю. М. Семенкевич // Вісник Київського Ботанічного саду. – 1926. – Вип. 4. – С. 45–57.

23. Флора Европейской части СССР: в 8 т. – Л.: Наука, 1974–1989.

24. Флора Восточной Европы: в 3 т. – М.; СПб.: КМК, 1996–2004.

25. Флора УРСР: в 12 т. – К.: В-во АН УРСР, 1936–1965.

26. Конспект флоры Середнього Придніпров'я. Судинні рослини / В. І. Чопик, М. М. Бортняк, Ю. О. Войтюк та ін. – К.: Фітосоціоцентр, 1998.

27. Шиндер О. І. Спонтанна флора Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України (м. Київ). Повідомлення 2. Методологічні

проблеми і критерії виділення ергазіофітів в умовах інтродукційного центру / О. І. Шиндер // Інтродукція рослин. – 2019. – № 2. – С. 3–16. – DOI:10.5281/zenodo.3240995.

28. Шиндер О. І. Спонтанна флора Сирецького дендрологічного парку загальнодержавного значення (м. Київ) / О. І. Шиндер, С. А. Глухова, С. М. Михайлик // Інтродукція рослин. – 2018. – № 2. – С. 54–63.

29. Шмальгаузен И. Флора Средней и Южной России, Крыма и Северного Кавказа: в 2 т. / И. Шмальгаузен. – К.: Изд-во Киевского ун-ва, 1897. – Т. 2. – XVI + 752 с.

30. *Biota of the O.V. Fomin Botanical Garden (Kyiv)* [Electronic resource]. – 2021. – Available from : <http://inaturalist.org/projects/biota-of-the-a-v-fomin-botanical-garden-kyiv> [15 October 2021].

31. *Europaean Garden Flora*. – New York : Cambridge University Press, 2011. – Vol. 1. Second Edit. – XIX + 665 p.

32. *Flora of North America Editorial Committee: in 21+ Vols.* [Electronic resource]. – New York; Oxford, 1993-2019. – Available from : <http://floranorthamerica.org> [30 September 2021]. Vol. 4: *Floranorthamerica.org/Talinum_paniculatum*; Vol. 7: *floranorthamerica.org/Polanisia_dodecandra_subsp._trachysperma*; Vol. 22: *floranorthamerica.org/Tradescantia*.

33. *GBIF:Global Biodiversity Information Facility* [Electronic resource]. – 2021. – Available from : <https://www.gbif.org> [30 September 2021].

34. *Heywood V. H. 67. Capparaceae. Flora Europaea / V. H. Heywood.* – Cambridge : University Press, 1993. – Vol. 1. – Second edit. – P. 312.

35. *Jakubowski W. Spis roślin zebranych w okolicach Kijowa i stacyi Bojarki / W. Jakubowski // Pamiętnik fizyograficzny.* – Warszawa, 1904. – T. 18. – S. 81–104.

36. *Mendoza J. M. Taxonomic revision of Talinum (Talinaceae) in Bolivia with a note on the occurrence of Phemeranthus (Montiaceae) / J. M. Mendoza, J. R. I. Wood // Kew Bulletin.* – 2013. – Vol. 68. – P. 233-247. – DOI:10.1007/S12225-013-9454-0.

37. *Mosyakin S. L. Vascular Plants of Ukraine. A nomenclatur checklist / S. L. Mosyakin, M. M. Fedoronchuk.* – Kyiv, 1999. – XXIII + 346 p.

38. *Mosyakin S. L. Lockdown botany 2020: some noteworthy records of alien plants in Kyiv City and Kyiv Region / S. L. Mosyakin, A. S. Mosyakin // Ukr. бот. журн.* – 2021. – 78 (2). – С. 96-111. – DOI:10.15407/ukrbotj78.02.096.

39. *Mosyakin S. L. The Nonnative Flora of the Kiev (Kyiv) Urban Area, Ukraine: A Checklist and Brief Analysis. Urban Habitats / S. L. Mosyakin, O. G. Yavorska.* – 2002. – Vol. 1, № 1. – P. 45-65.

40. *POWO: Plants of the World Online* [Electronic resource]. – 2021. – Available from : <https://www.http://powo.science.kew.org> [30 September 2021].

41. *Protopopova V. V. Ergasiophytes of the Ukrainian flora / V. V. Protopopova, M. V. Shevera // Biodiv. Res. Conserv.* – 2014. – Vol. 35. – P. 31-46. – DOI:10.2478/biorc-2014-0018.

References (Scopus)

1. *Borsykevich L.M., Prokopiv A.I. Spontaneous flora of the Botanical Garden of Ivan Franko National University Botanical Garden of Lviv // Plant introduction.* 2012. – № 3. – P. 57–61. (In Ukrainian).

2. *Bereskina V.I., Gubar L.M., Menshova L.M., Peregrym M.M.* The previous list of spontaneous species of vascular plants of the O.V. Fomin Botanical Garden. In: Solomakha V.A. (ed.) O.V. Fomin Botanical Garden. Index plantarum. Nature reserve territories of Ukraine. Plant world. Iss. 7. – Kyiv: Phytosociocentre, 2007. – P. 292–315. (In Ukrainian).

3. *Glukhova S.A., Shinder O.I., Yemets L.I., Mikhailik S.M.* Catalog of herbaceous plants of Syretsky Dendrological Park. Reference edition. – Poltava: Poltava writer, 2016. – 82 p. (In Ukrainian).

4. *Golyachenko T.G., Bortnyak N.N., Voityuk Yu.A., Smyk G.K.* Distribution of adventive species of the genus *Veronica* L. in the Middle Dnipro area // *Ukrainian Botanical Journal.* – 1992; 49(3). – P. 93–95. (In Ukrainian).

5. *Gubar L., Yakushenko D.* Spontaneous flora of O.V. Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv // *Herald of the Taras Shevchenko National University of Kyiv. Ser. Introduction and conservation of plant diversity.* – 2009; Vol. 22–24. – P. 113–115. (In Ukrainian).

6. *Catalog of ornamental herbaceous plants of botanical gardens and arboreturns of Ukraine* [Electron.ed.] / For ed. S.P. Mashkovskaya. – K., 2015. 284 p. (In Ukrainian).

7. *Kirpichnikov M.E. Genus 1654. Lettuce, lettuce –Lactuca L. Flora of the USSR.* – Moscow; Leningrad: Nauka, 1964. – Vol. 29. – P. 274-317. (in Russian).

8. *Kolisnichenko O.M.* The ability of tree introducers to invade // *Bulletin of the Taras Shevchenko National University. Ser. Introduction and preservation of plant diversity.* – 2005. – № 8. – P. 27–31. (In Ukrainian).

9. *Konaikova V.O., Peregrym M.M., Gubar L.M.* Addition to the list of spontaneous flora of the O.V. Fomin Botanical Garden of the Taras Shevchenko National University of Kyiv // *Studia Biologica.* – 2015. – Vol. 9, № 2. – P. 159-168. (In Ukrainian).

10. *Mayorov S.R., Bochkina V.D., Nasimovich Yu.A., Shcherbakov A.V.* Adventure flora of Moscow and Moscow region. – Moscow: KMK, 2012. – 412 p. (in Russian).

11. *Novosad V.V., Krytska L.I.* Phyto- and flora diversity of Middle Transnistria. Vascular plants. – Kyiv: Fiton. – Vol. 1. – 148 s. (In Ukrainian).

12. *Moluschytska M.I.* Spontaneous herb flora of the Botanical Garden of the T.G. Shevchenko State University of Kyiv // *Scientific Notes of the State University of Kyiv.* – 1948. – Vol. VII (VI). – P. 85–97. (In Ukrainian).

13. *Montrezor V.* Review of plants that make up the flora of the provinces of the Kiev educational district, Kiev, Volyn, Podolsk, Chernigov and Poltava // *Notes of the Kiev Society of Naturalists.* – 1886. – Vol. 8, no.1 (part 1). –

S. 1-144; 1887. – Vol. 8, no.2 (part 2). – S. 185-288; 1888. Vol. 9, no.1-2 (part 3). – S. 119-198; 1890. Vol. 10, no.3 (part 4). – S. 457-546. (in Russian).

14. *Mosyakin S.L., Yavorska O.G.* New finds of adventive plants in the flora of Kyiv urban agglomeration // *Ukr. Bot. journal.* – 2001. – Vol. 58, № 4. – P. 493-498. (In Ukrainian).

15. *Oksiyuk P.* On the question of the distribution of adventitious plants in Ukraine // *Proceedings Body of Kyiv Research Departments.* – K., 1924. – Vol. 2. – P. 121-129. (In Ukrainian).

16. *Keys to higher plants of Ukraine.* / Ed. Yu.N. Prokudin. – K.: Naukova Dumka, 1987. – 548 p. (in Russian).

17. *Orlov O.O., Gubar L.M.* First cases of escape from cultivation of *Macleania cordata* (Willd.) R. Br. (Papaveraceae) in Ukraine // *Ukrainian Botanical Journal.* – 2009. – Vol. 66 (4). – P. 550–553. (In Ukrainian).

18. *Peregrym M.M., Chekalin O.P.* Population of bulb and bulb tuberiferous plants in the territory of O.V. Fomin Botanical Garden (Kyiv, Ukraine) / Introduction, conservation and monitoring of plant diversity: Proceedings of the Int. Sci. Conf. for the 175th anniversary of O.V. Fomin Botanical Garden of the T. Shevchenko University of Kyiv. – Kyiv, 2014. – P. 148–149. (In Ukrainian).

19. *Protopopova V.V.* Adventive plants of the forest-steppe and steppe zones of Ukraine. – Kiev: Naukova Dumka, 1973. 188 p. (In Ukrainian).

20. *Rogovych A.S.* The review of seed plants and high spore plants listing to flora of the provinces of the Kiev educational area: Volyn', Podolia, Kiev, Chernigov, Poltava // *Kiev University Bulletin.* 1869. – 308 p. (In Russian).

21. *Semenkevich Yu.M.* Some additions to the flora of the suburbs of Kyiv // *Bulletin of the Kyiv Botanical Garden.* – 1925. – Vol.3. – P. 35-46. (In Ukrainian).

22. *Semenkevich Yu.M.* Some additions to the flora of the outskirts of Kyiv (Continuation) // *Bulletin of the Kyiv Botanical Garden.* – 1926. – Vol. 4. – P. 45-57. (In Ukrainian).

23. *Flora of the European part of the USSR: in vol. 8. – L. Science.* – 1974-1989.

24. *Flora of Eastern Europe in 3 vol. – Moscow – St. Peresburg: KMK, 1996-2004.*

25. *Flora of the USSR in 12 vols. – Kyiv: In the Academy of the Sciences of the USSR.* – 1936-1965.

26. *Chopyk V.I., Bortnyak M.M., Voityuk Yu.O., Pogrebennyk V.P., Kucheryava L.F., Nechitaylo V.A., Lyubchenko V.M., Schevchik V.L.* Summary of the flora of the Middle Dnipro. Vascular plants. – Kyiv: Phytosociocentre, 1998. – 140 p. (In Ukrainian).

27. *Shynder O.I.* Spontaneous flora of the M.M. Gryshko National Botanical Garden NAS of Ukraine (Kyiv). Message 2. Methodological problems and criteria for selection of ergasiophytes in the conditions of the introduction center // *Plants introduction.* – 2019. – №2. – S. 3-16. DOI:10.5281/zenodo.3240995.

28. *Shynder O.I., Glukhova S.A., Mykhailik S.M.* Spontaneous flora of Syretsky Dendrological Park of national importance (Kyiv) // *Plants introduction.* – 2018. – №2. – S. 54-63. (In Ukrainian).

29. *Schmalhausen I.* Flora of Central and Southern Russia, Crimea and the North Caucasus: in 2 vols. – K.: Publ. House of Kiev Univ. – Vol. 2. 1897. – XVI + 752 s. (In Russian).

30. *Biota of the O.V. Fomin Botanical Garden (Kyiv).* 2021. Available from : <http://inaturalist.org/projects/biota-of-the-a-v-fomin-botanical-garden-kyiv> [15 October 2021].

31. *Europaean Garden Flora.* New York: Cambridge University Press, 2011. Vol. 1. Second Edit. XIX + 665 p.

32. *Flora of North America Editorial Committee: in 21+ Vols.* New York and Oxford, 1993-2019. Available from : <http://floranorthamerica.org> [30 September 2021] (Vol. 4: *floranorthamerica.org/Talinum_paniculatum*; Vol. 7: *floranorthamerica.org/Polanisia_dodecandra_subsp._trachysperma*; Vol. 22: *floranorthamerica.org/Tradescantia*).

33. *GBIF:Global Biodiversity Information Facility.* 2021. Available from : <https://www.gbif.org> [30 September 2021].

34. *Heywood V.H. 67. Capparaceae. Flora Europaea.* Cambridge: University Press, 1993. Vol. 1. Second edit. P. 312.

35. *Jakubowski W.* Spisok roślin zebranych w okolicach Kijowa i stacyi Bojarki. Pamiętnik fizyograficzny. Warszawa, 1904. T. 18. S. 81–104.

36. *Mendoza J.M., Wood J.R.I.* Taxonomic revision of *Talinum* (Talinaceae) in Bolivia with a note on the occurrence of *Phemeranthus* (Montiaceae). *Kew Bulletin.* – 2013. – Vol. 68. – P. 233-247. DOI:10.1007/S12225-013-9454-0.

37. *Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M.* Vascular Plants of Ukraine. A nomenclatur checklist. Kyiv, 1999. XXIII + 346 p.

38. *Mosyakin S.L., Mosyakin A.S.* Lockdown botany 2020: some noteworthy records of alien plants in Kyiv City and Kyiv Region // *Ukr. Bot. journal.* – 2021. – Vol. 78 (2). – P. 96-111. DOI:10.15407/ukrbotj78.02.096.

39. *Mosyakin S.L., Yavorska O.G.* The Nonnative Flora of the Kiev (Kyiv) Urban Area, Ukraine: A Checklist and Brief Analysis. Urban Habitats. 2002. Vol. 1. N 1. P. 45-65.

40. *POWO: Plants of the World Online.* 2021. Available from : <https://www.http://powo.science.kew.org> [30 September 2021].

41. *Protopopova V.V., Shevera M.V.* Ergasiophytes of the Ukrainian flora // *Biodiv. Res. Conserv.* – 2014. Vol. 35. – P. 31–46. DOI:10.2478/biorc-2014-0018.

Надійшла до редколегії 16.09.2021
Отримано виправлений варіант 16.10.2021
Підписано до друку 16.10.2021

Received in the editorial 16.09.2021
Received version on 16.10.2021
Signed in the press on 16.10.2021

В. Коломийчук, д-р. биол. наук, доц.
Ботанический сад им. О. В. Фомина, Учебно-научный центр "Институт биологии и медицины",
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,
О. Шиндер, канд. биол. наук
Национальный ботанический сад имени Н. Н. Гришко АН Украины, Киев, Украина

ДОПОЛНЕНИЕ К СПОНТАННОЙ ФЛОРЕ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ИМЕНИ АКАД. А. В. ФОМИНА

Представлены результаты инвентаризации дикорастущих растений на территории Ботанического сада им. А. В. Фомина в 2021 г. Для нужд исследования создан онлайн-проект "Biota of the O. V. Fomin Botanical Garden (Kyiv)". Охарактеризованы исторические вехи и последние успехи в исследовании спонтанной флоры Ботанического сада. Отмечена тенденция роста количества видов сосудистых растений. В частности, в середине XX ст. для территории Сада приводилось 220 видов сосудистых растений, в начале XXI века – уже 245 видов (2005) и 314 видов из 215 родов и 65 семейств в 2008 г. В 2015 г. отмечено уже 347 видов растений из 223 родов, 67 семейств, 4 классов, 3 отделов. По результатам исследований в 2021 г. авторами статьи обнаружено еще 115 новых таксонов спонтанной флоры Ботанического сада. Приведены их список, места и даты обнаружения, авторство находки. Впервые для флоры Украины приведены 4 таксона адвентивных растений: *Arabis procurrens*, *Lactuca sibirica*, *Polanisia dodecandra* subsp. *trachysperma* и *Talinum paniculatum*. Даны основные таксономические и хорологические характеристики, указана известная авторам информация о натурализации этих таксонов в других странах. Впервые для флоры Правобережной Лесостепи и (или) урбанofлоры Киева приведены *Cymbalaria muralis*, *Cyperus glomeratus*, *Phedimus stoloniferus*, *Ranunculus acris* subsp. *friesianus*, *Tradescantia* × *andersoniana*. Дополнительно в ходе исследования выявлено 29 интродуцированных видов растений с высокими показателями натурализации, которые нуждаются в дальнейшем мониторинге. Приведен их список и особенности натурализации. По результатам исследования полный список спонтанной флоры Ботанического сада им. А. В. Фомина включает 524 таксона из 291 рода и 71 семейства.

Ключевые слова: спонтанная флора, Ботанический сад им. А. В. Фомина, натурализация, адвентивные растения.

V. Kolomyichuk, Dr Sc., Associate Prof.
O. V. Fomin Botanical Garden, Educational and Scientific Centre "Institute of Biology and Medicine"
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
O. Shynder, PhD
M. M. Gryshko National Botanical Garden of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ADDITION TO THE SPONTANEOUS FLORA OF O. V. FOMIN BOTANICAL GARDEN (KYIV)

The results of the inventory of wild plants in the territory of O.V. Fomin Botanical Garden in 2021 are given. For the needs of the research, an online project "Biota of the O.V. Fomin Botanical Garden (Kyiv)" has been launched. Historic milestones and latest achievements in the study of spontaneous flora of the Botanical garden are characterized. The tendency towards the increase in number of vascular plant species is noted. Specifically, in the middle of the 20th century there were reported 220 species of vascular plants for the Botanical garden territory, in the early 21st century there were 245 species (2005) and 314 species from 215 genera and 65 families (2008). In 2015, 347 species from 223 genera, 67 families, 4 classes and 3 divisions were noted. According to the results of the study in 2021, 115 new plants were found by the authors of the article in spontaneous flora of the Botanical garden. The list of new taxa, their habitat and date of discovery, as well as the authorship of the findings are given. For the first time, 4 taxa of alien plants were found for the flora of Ukraine: *Arabis procurrens*, *Lactuca sibirica*, *Polanisia dodecandra* subsp. *trachysperma* and *Talinum paniculatum*. Their main morphological, taxonomic and geographical characteristics are briefly described, information on the naturalization of these taxa in other countries is given. For the first time for the flora of the Right-Bank Forest-Steppe and the urban flora of Kyiv the following are given: *Cymbalaria muralis*, *Cyperus glomeratus*, *Phedimus stoloniferus*, *Ranunculus acris* subsp. *friesianus*, *Tradescantia* × *andersoniana*. Additionally, during the research there were identified 29 introduced plants with high naturalization rates that need further monitoring. Their list and features of naturalization are given. According to the results of the study, a complete list of the spontaneous flora of the O.V. Fomin Botanical Garden includes 524 taxa from 291 genera and 71 families.

Keywords: spontaneous flora, O.V. Fomin Botanical Garden, naturalization, alien plants.

УДК 577.112.083:616.127
DOI 10.17721/1728.2748.2021.87.27-31

Т. Мариненко, здобувач,
Т. Галенова, канд. біол. наук,
Л. Остапченко, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВПЛИВ ФРАКЦІЇ IgG ІЗ ПЛАЗМИ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З ГОСТРИМИ КОРОНАРНИМИ СИНДРОМАМИ НА ПАРАМЕТРИ СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ

*Ішемічна хвороба серця – найпоширеніша форма серцево-судинних захворювань, що є однією із основних причин смертності та втрати працездатності в усьому світі. Нині триває активний пошук ефекторних молекул ендogenous походження та їх апробація на роль нових терапевтичних мішеней і біологічних маркерів, які дозволять прогнозувати ризик розвитку ІХС, полегшать процес моніторингу динаміки захворюваності на тлі терапії. Серед таких молекул на особливу увагу заслуговують імуноглобуліни класу G (IgG), які акумулюються в загальному кровотоці у відповідь на появу в організмі нетипових та модифікованих білків, їхніх фрагментів, що є закономірним наслідком активації запальних і прокоагуляційних реакцій за умов ІХС. В експериментах *in vitro* нами досліджено ефекторний потенціал IgG, одержаних із сироватки крові пацієнтів з нестабільною стенокардією та інфарктом міокарда, на агрегацію тромбоцитів і секрецію ендотеліну-1 та фактора фон Віллебранда ендотеліальними клітинами у культурі HUVEC і не зазначено жодного впливу IgG, одержаних із сироватки крові пацієнтів з ІХС, як на активацію тромбоцитів, так і на динаміку АДФ-залежного процесу агрегації клітин. Однак при додаванні IgG до середовища культивування клітин HUVEC показано посилення секреції клітинами як фактора фон Віллебранда, так і ендотеліну-1. Висока концентрація фактора фон Віллебранда в системному кровотоці може бути причиною зростання протромботичного потенціалу, тоді як акумуляція ендотеліну-1 може сприяти розвитку гіпоксії міокарда та інших периферійних тканин. Усе це може призвести до порушення процесів коагуляції та, як наслідок, розвитку і прогресування ускладнень ІХС. Слід зазначити, що антитіла, одержані із сироватки крові хворих із прогресуючою нестабільною стенокардією, чинили максимально виражений ефект. Отримані результати розкривають нові перспективи у вивченні ефекторних властивостей антитіл та їхньої ролі в патогенезі ІХС.*

Ключові слова: інфаркт міокарда, нестабільна стенокардія, ішемічна хвороба серця, імуноглобуліни класу G, агрегація тромбоцитів, фактор фон Віллебранда, ендотеліну-1.

Вступ. Згідно з визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я ішемічна хвороба серця (ІХС) – це патологічний стан, що характеризується абсолютним або відносним порушенням коронарного кровотоку, наслідком чого є зниження постачання міокарда киснем [1]. Одним із двох найбільш поширених виявів ішемії міокарда є стенокардія, іншим – гострий інфаркт міокарда. ІХС визнана епідемією кінця ХХ – початку ХХІ століття. Протягом останніх десятиліть ІХС є однією із основних причин смерті населення в індустріально розвинених країнах світу. Однак не менш гостро ця проблема стоїть в Україні, де ІХС діагностована у близько 8 млн осіб, а показники летальності від ІХС у 2–4 рази вище, ніж у західноєвропейських країнах [2]. Саме тому виникає потреба в оптимізації методів ранньої діагностики ІХС і визначення ендogenous чинників, здатних впливати на розвиток та перебіг ІХС.

ІХС є мультифакторною патологією. І хоча атеросклероз коронарних артерій визнаний основним фактором ризику, що становить 90 % від епізодів ішемії міокарда, є інші, не менш вагомі фактори. Серед них спазм і тромбоз коронарних артерій, мікрovasкулярна дисфункція, які при поєднанні можуть призводити до звуження та/або повної обструкції коронарних судин [3]. Серед причин підвищення тону та спазму коронарних артерій не остання роль належить збільшенню продукції вазоконстрикторів (ендотеліну, тромбоксану А₂, ангіотензину II, серотоніну), зниженню концентрації вазодилаторів (оксиду азоту, простагліну, ендотелій-релаксуючого фактора), а також змінам у системі гемостазу. Наприклад, у пацієнтів з ІХС часто зазначаються активація прокоагулянтної ланки системи гемостазу на тлі зниження фібринолітичного потенціалу плазми, а також дисфункція судинно-тромбоцитарної ланки системи гемостазу, що виявлялося у посиленні спонтанної та АДФ-залежної агрегації тромбоцитів [4].

У попередніх роботах ми досліджували ефекторні властивості імуноглобулінів класу G (Ig G), загальний пул яких був отриманий із сироватки крові пацієнтів з

атеротромботичним або кардіоеMBOLІЧНИМ ішемічним інсультом. В експериментах *in vitro* було доведено, що отримана фракція IgG сприяла посиленню АДФ-залежної агрегації тромбоцитів і чинила вплив на окремі фактори коагуляції, зокрема тромбін та протейн С, тим самим індукуючи зсув гемостатичного балансу в бік прокоагулянтного [5–7]. У інших дослідженнях було показано модулюючий вплив таких IgG на судинну функцію [8]. Такі результати стали підґрунтям для цілої низки експериментальних робіт, що довели ефекторні властивості IgG, їхню здатність провокувати тромбоутворення за ішемічного інсульту.

Метою цього дослідження було оцінити в експериментах *in vitro* ефекторний потенціал імуноглобулінів класу G, отриманих із сироватки крові пацієнтів із нестабільною стенокардією та інфарктом міокарда, на агрегацію тромбоцитів і секрецію ендотеліну-1 (ЕТ-1) та фактора фон Віллебранда (vWF) ендотеліальними клітинами у культурі HUVEC.

Матеріали та методи. Для дослідження було залучено 46 пацієнтів, що перебували на лікуванні в кардіологічному відділенні Київської міської лікарні № 12. У 28 хворих був підтверджений діагноз прогресуюча нестабільна стенокардія (ПНС), у 18 – інфаркт міокарда (ІМ). Контрольну групу становили 20 відносно здорових донорів, без виявів ІХС в анамнезі, які за віком і статтю відповідали групам пацієнтів із ПНС та ІМ. Усі пацієнти та донори були ознайомлені із протоколом експерименту та добровільно погодилися взяти участь у дослідженні, підписавши інформовану згоду.

Загальну фракцію IgG отримували із сироватки крові хворих і донорів методом афінної хроматографії на колонці із протейн А сефарозою (GE Healthcare, США). Для цього на хроматографічний носій об'ємом 5 мл наносили рівні об'єми (0,5 мл) плазми, одержаної зі зразків крові окремих осіб. Неспецифічно зв'язані білки відмивали 0,05 М трис-НСІ буферним розчином, рН 7,4. Для елюції IgG використовували 0,1 М гліцин-НСІ буферний розчин,

pH 2,2 [5]. Вихід імуноглобулінової фракції контролювали за допомогою зміни поглинання в ультрафіолетовій області, що реєструвалось УФ-датчиком хроматографа BioLogic LP (BioRad, США). Вміст IgG в елюатах визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 280 нм (SmartSpecPlus, BioRad, США), використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $210 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ із подальшим перерахуванням концентрації на 1 мл сироватки.

Імуноглобулінової фракції, отримані із сироватки крові пацієнтів окремих груп і донорів, об'єднували та висолювали 50 %-м розчином сульфату амонію протягом 12 год за температури $+4 \text{ }^\circ\text{C}$. Висол центрифугували при 3000 об./хв протягом 30 хв. Одержаний осад розчиняли в мінімальному об'ємі 0,05 М трис-НСІ буферного розчину, pH 7,4. Надалі розчини сумарних антитіл доочищали від надлишку солі за допомогою хроматографії, що поділяє за розміром, на колонці із сефадексом G-25 (GE Healthcare, США). Матеріал наносили та збирали у 0,05 М трис-НСІ буферному розчині, pH 7,4, за швидкості потоку 5 мл/хв. Фракції отриманих імуноглобулінів висушували шляхом ліофілізації (TestarLyоQuest, Іспанія) та зберігали при $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ до подальшого вивчення потенційних ефектів антитіл на процес агрегації тромбоцитів та секреторну функцію ендотеліальних клітин. Безпосередньо перед експериментом зразки IgG розчиняли у 0,05 М трис-НСІ буферному розчині, pH 7,4, контролюючи концентрацію спектрофотометрично за довжини хвилі 280 нм.

Агрегацію тромбоцитів досліджували на фотооптичному агрегометрі АТ-02 (Медтех, РФ) за методикою, описаною раніше [8]. Плазму, збагачену тромбоцитами (ПЗТ), із вмістом клітин 230–250 тис. на 1 мкл інкубували зі зразками антитіл (кінцева концентрація IgG була однаковою та становила 300 мкг на 1 мл ПЗТ) протягом 2 хв при $\pm 37 \text{ }^\circ\text{C}$ та постійному перемішуванні при 600 об./хв. Агрегацію тромбоцитів індукували, додаючи до зразків АДФ у кінцевій концентрації $5 \times 10^{-6} \text{ M}$, а процес агрегації контролювали протягом наступних 8 хв. Криві агрегації записували та аналізували за допомогою комп'ютерного програмного забезпечення АТ-02 (Медтех, РФ). Криві, що відображали динаміку агрегації тромбоцитів у ПЗТ, інкубованій протягом 2 хв із 0,05 М трис-НСІ буферного розчину, pH 7,4, використовували як контроль для порівняння ефекторних властивостей антитіл.

Потенційний вплив IgG на секрецію ендотеліоцитами деяких важливих гемостатичних факторів визначали в експериментах *in vitro* з використанням культури ендотеліальних клітин пуповинної вени людини (HUVEC), отриманих згідно з рекомендаціями, детально описаними в роботі [8]. Дослідження проводили на вторинних культурах, вирощених у 24-луноквих планшетах. Зразки IgG додавали до середовища культивування, при цьому кінцева концентрація антитіл була однаковою для всіх дослідних груп і становила 300 мкг/мл. Аліквоти культурального середовища відбирали через 30 хв від моменту внесення антитіл і використовували в подальших експериментах. Зразки культурального середовища, клітини якого не піддавали жодному впливу, були також відібрані з відповідним часовим інтервалом і використовувалися як контроль базального рівня секреторної активності клітин.

Рівень ендотеліну-1 (ЕТ-1) та фактора фон Віллебранда (vWF) у культуральному середовищі визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу згідно зі стандартним протоколом, використовуючи відповідні первинні антитіла (Sunta Cruz, США), вторинні антитіла, кон'юговані з пероксидазою хрому (Sigma, США), і хромогенний субстрат – о-фенілендіамін (BioRad, США). Оптичну щільність проб визначали за довжини хвилі 405 нм за допомогою мікропланшетного спектрофотометра μQuant (BioTekInstruments, США). Оптичну щільність проб, що містили зразок культурального середовища, клітини якого не піддавалися впливу антитіл, оцінювали як показник, що відображає базальний рівень секреції ЕТ-1 та vWF.

Статистичну обробку даних здійснювали шляхом застосування методів дослідження випадкових величин та описової статистики. Визначали середнє арифметичне (M) та помилку середнього арифметичного (m). Результати дослідження представлені у вигляді $M \pm m$. При аналізі непараметричних даних використовували однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA, обрахунки здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Statistica v 8.0. Вірогідною вважали відмінність між рядами при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. На сьогоднішній день накопичено чимало експериментально обґрунтованих доказів щодо існування взаємозв'язку між ризиком розвитку серцево-судинних захворювань і акумуляцією антитіл у плазмі крові [9]. Доведено потенційну ефекторну дію імуноглобулінів класу G на функціонування окремих клітин, систем органів та організму загалом. Попередні наші дослідження показали позитивну кореляцію між активацією протромботичних процесів та накопиченням IgG за ішемічного інсульту [5-8]. Окрім цього, достовірно відомо, що взаємодія антитіл з мембранними рецепторами клітин судинної стінки запускає каскад сигнальних подій, що реалізуються судинною дисфункцією та розвитком атеросклерозу. Метою цього дослідження було вивчити потенційний вплив IgG, накопичених в організмі пацієнтів із прогресуючою нестабільною стенокардією та інфарктом міокарда, на деякі параметри системи гемостазу, зокрема агрегацію тромбоцитів, а також секреторну функцію ендотеліальних клітин.

Аномальне накопичення антитіл у системному кровотоці має місце за різних патологічних станів, серед яких системний склероз, ревматоїдний артрит, діабет, системний червоний вовчак та інші аутоімунні розлади. Незважаючи на можливу діагностичну та прогностичну цінність антитіл, їхня роль у патогенезі розладів серцево-судинної системи до сих пір залишається дискусійним питанням. Тому ми визначили концентрації IgG у плазмі крові пацієнтів з ІХС та порівняли їх із цим показником відносно здорових донорів (табл. 1). Як показали результати, концентрація антитіл у системному кровотоці практично здорових осіб становила $7,36 \pm 0,34$ мкг/мл, а в пацієнтів із прогресуючою нестабільною стенокардією та інфарктом міокарда цей показник був вище контрольного на 30 та 20 %, відповідно (табл. 1).

Таблиця 1. Концентрація імуноглобулінів класу G (IgG) у сироватці крові пацієнтів з ішемічною хворобою серця

Досліджувана група	Концентрація IgG, мкг/мл
донори	$7,36 \pm 0,34$
прогресуюча нестабільна стенокардія	$9,58 \pm 0,39^*$
інфаркт міокарда	$8,85 \pm 0,22^*$

Примітка: * – зміни достовірні щодо показника відносно здорових донорів, $p < 0,05$.

Загальну фракцію IgG із сироватки крові пацієнтів та відносно здорових донорів отримували методом афінної хроматографії на протеїн А сефарозі. Для перевірки чистоти отриманої фракції IgG проводили диск-електрофорез за відновлених та невідновлених умов, результати якого довели гомогенність отриманого пулу антитіл (результати не представлені).

Далі була проведена серія експериментів *in vitro* з метою перевірки потенційних ефektorних властивостей антитіл, акумульованих у крові пацієнтів з ІХС. При інкубації плазми, збагаченої тромбоцитами зі зразками загальних пулів IgG, одержаних як із сироватки крові відносно здорових донорів, так і обох груп пацієнтів (із ПНС і ІМ),

ми не зазначали жодного ефекту на динамічний стан тромбоцитів. Відсутність індукції агрегації протягом перших двох хвилин інкубації тромбоцитів із IgG (до моменту внесення фізіологічного індуктора) вказує на відсутність прямого впливу антитіл на процес активації тромбоцитів. Більше того, подальший аналіз динаміки агрегації тромбоцитів після внесення АДФ, одного із фізіологічних індукторів розглядуваного процесу, показав збереження максимального ступеня агрегації та основних динамічних характеристик процесу (швидкість агрегації та дезагрегації) на рівні показників контрольної кривої, що відображала динаміку агрегації тромбоцитів за відсутності в середовищі антитіл (рис. 1).

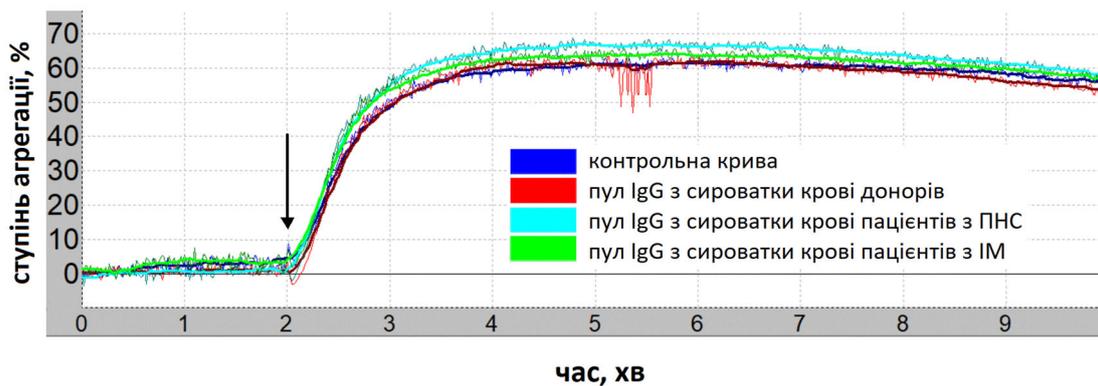


Рис. 1. Типові агрегатограми, що відображають динаміку АДФ-залежної агрегації тромбоцитів у ПЗТ за умов її попередньої двоххвилинної інкубації з імуноглобулінами класу G (IgG), отриманих із сироватки крові донорів та пацієнтів із прогресуючою нестабільною стенокардією (ПНС) та інфарктом міокарда (ІМ). Стрілкою позначено момент внесення АДФ до середовища інкубації. Контрольна крива відображає динаміку агрегації тромбоцитів за відсутності IgG в інкубаційному середовищі

Фактор фон Віллебранда (vWF) – це мультимерний глікопротеїн плазми крові, що має одну із ключових функцій у підтриманні гемостатичного балансу. Він бере участь в індукції механізмів активації та адгезії тромбоцитів у місці uszkodження ендотелію судин, а також виражає кофакторну функцію щодо фактора VIII з'єднання крові, стабілізуючи його. Отже, vWF можна розглядати як біомаркер функціонального стану системи гемостазу. Результати нашого експерименту показали, що vWF акумулювався в середовищі культивування клітин HUVEC за наявності в ньому антитіл (рис. 2 А). Порівнюючи ефект антитіл, одержаних із сироватки крові відносно здорових донорів та пацієнтів з ІХС, ми зазначили, що антитіла, одержані із сироватки крові пацієнтів із ПНС, мали максимально виражений ефект, який був достовірно вищим за ефект донорських антитіл (рис. 2 А). Підвищена секреція vWF ендотеліальними клітинами за дії IgG може вказувати на ефektorну функцію останніх і, у свою чергу, обумовлювати зсув гемостатичного балансу в бік протромботичного.

Серед факторів, що можуть бути причиною патологій серцево-судинної системи, особлива роль належить ендотеліальній дисфункції. В останні роки все більше уваги приділяється дослідженню ролі ендотеліальних медіаторів у підтриманні не лише функціонального стану ендотелію, але й гемостатичного балансу загалом. Установлено, що ендотелій судин є не лише пасивним фізіологічним бар'єром між кров'ю і тканинами, але й активним

органом, що регулює судинний тонус, бере участь у запальних і аутоімунних реакціях. Регуляція судинного тону здійснюється через секрецію вазодилаторів та вазоконстрикторів. Серед останніх важливе значення мають ендотеліни – група пептидів, що в організмі представлені трьома ізоформами: ендотелін-1, -2 та -3. Ендотелін-1 належить до найпотужніших природних вазоконстрикторів, а його високі концентрації в кровотоці можуть бути причиною спазму коронарних артерій, що, у свою чергу, може бути фактором розвитку гіпоксії та ІХС. Отримані нами результати імуноферментного аналізу культурального середовища на присутність у ньому ендотеліну-1 свідчать про акумуляцію розглядуваного вазоконстриктора за умов інкубації клітин культури HUVEC з антитілами, одержаних як із сироватки крові відносно здорових донорів, так і пацієнтів з ІХС. Слід наголосити, що ефект імуноглобулінів, одержаних із сироватки крові пацієнтів із різними формами ІХС, на продукцію ендотеліальними клітинами ендотеліну-1, був дещо різним. Антитіла, одержані із крові пацієнтів із ПНС, мали більш виражений ефект на секрецію ендотеліну-1 клітинами, ніж антитіла, одержані із крові пацієнтів ІМ (рис. 2, Б). Отримані результати додатково підтверджують ефektorні властивості антитіл та їхню здатність впливати на розвиток і перебіг патологічних процесів за умов ІХС. Однак механізми дії імуноглобулінів залишаються невстановленими і потребують додаткового вивчення.

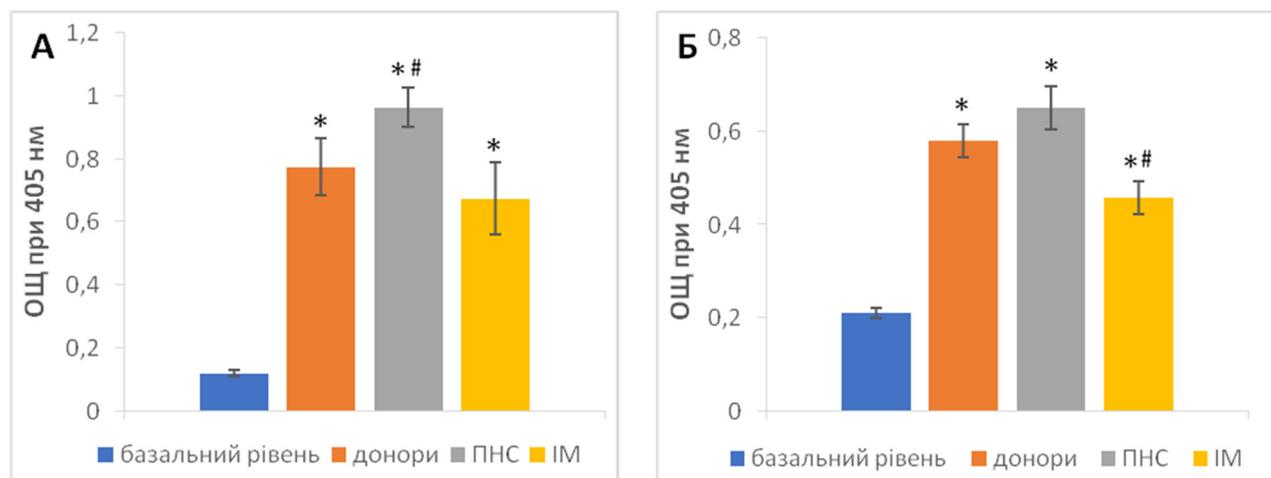


Рис. 2. Оптична щільність (ОЩ) проб в імуноферментному аналізі, що відображає рівень фактора фон Віллебранда (А) та ендотеліну-1 (Б) у культуральному середовищі за умов 30-хвилинної інкубації клітин культури HUVEC з імуноглобулінами класу G, отриманих із сироватки крові донорів та пацієнтів із прогресуючою нестабільною стенокардією (ПНС) та інфарктом міокарда (ІМ). Базальний рівень відображає оптичну щільність проб, що відповідає базальному рівню секреції антигенів клітинами HUVEC за відсутності IgG у культуральному середовищі

*Примітка:** – зміни достовірні щодо показника базального рівня, $p < 0,05$;
– зміни достовірні щодо показника відносно здорових донорів, $p < 0,05$.

Висновки. Отримані результати вказують на потенційну роль імуноглобулінів класу G у розвитку та прогресуванні ІХС. Акумуляція антитіл у системному кровотоці за ІХС може сприяти секреції таких факторів, як vWF та ендотелін-1, клітинами ендотелію судин. Наслідком накопичення останніх у кровоносному руслі може бути порушення мікроциркуляції як локально, так і на системному рівні, гіпоксія тканин, зокрема міокарда, хронізація запального процесу та зсув гемостатичного балансу в бік протромботичного. З іншого боку, необхідно зазначити, що зроблені висновки є попередніми, їх остаточне підтвердження або спростування потребує додаткових досліджень, які передусім дадуть змогу оцінити ефекторні властивості антитіл у біологічній системі *in vivo*. Отримані ж дані є чудовим підґрунтям для планування напрямів подальших досліджень.

Список використаних джерел

1. Корж О. М. Сучасні аспекти діагностики та лікування ішемічної хвороби серця / О. М. Корж // Міжнародний медичний журнал. – 2020. – № 1. – С. 5-10.
2. Теренда Н. О. Тенденції та прогноз поширеності стенокардії та інфаркту міокарда в Україні / Н. О. Теренда // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2015. – № 3 (65). – С. 35-40.
3. Hajar R. Risk Factors for Coronary Artery Disease: Historical Perspectives / R.Hajar // Heart Views. – 2017. – V. 18, № 3. – P. 109-114. – doi: 10.4103/HEARTVIEWS.HEARTVIEWS_106_17.
4. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease: the Athero Genestudy / P. Morange, C. Bickel, V. Nicaud et al. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2006. – Vol. 26, № 12. – P. 2793-2799. – doi: 10.1161/01.ATV.0000249406.92992.0d.
5. Influence of IgG separated from blood plasma of patients with ischemic stroke on the process platelet's proteins secretion / T. Katrii, T. Vovk, N. Kravchenko et al. // International Journal of Chemical and Biomolecular Science. – 2015. – Vol. 4. – P. 278-283.
6. The influence of immunoglobulin in class G from blood plasma of patients with stroke on the activity of some parameters of haemostasis system / T. Katrii, N. Kravchenko, T. Vovk et al. // Journal of Blood Coagulation and Fibrinolysis. – 2016. – Vol.27, N.8. – P.876-881.
7. Katrii T. B. Platelets aggregation under influence of IgG separated from the blood plasma of the patients with ischemic stroke / T. Katrii, O. Savchuk // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2016. – № 1(20). – С. 22-25.

8. Katrii T. Effects of IgG from the serum of ischemic stroke patients on hemostasis / T. Katrii, N. Raksha, T. Halenova // Journal of Biological Research. – 2021. – V. 94. – P. 9582. – doi:10.4081/jbr.2021.9582.
9. Meier L. A. The Contribution of Autoantibodies to Inflammatory Cardiovascular Pathology / L. A. Meier, B. A. Binstadt // Front Immunol. – 2018. – V. 9. – P. 911. – doi: 10.3389/fimmu.2018.00911.

Reference (Scopus)

1. Korzh O M. Current aspects of coronary heart disease diagnosis and treatment. Mizhnarodnyy medychnyy zhurnal. 2020; 1:5-10.
2. Terenda N.O. Tendentsii ta prognos poshyrenosti stenokardii ta infarktu miokarda v Ukraini / N.O. Terenda // Visnyk sotsialnoi hihiieny ta orhanizatsii okhorony zdorovia Ukrainy. – 2015. – № 3 (65). – S.35-40.
- 3.Hajar R. Risk Factors for Coronary Artery Disease: Historical Perspectives. Heart Views. 2017;18(3):109-114. doi: 10.4103/HEARTVIEWS.HEARTVIEWS_106_17.
4. Morange PE, Bickel C, Nicaud V, et al. Haemostatic factors and the risk of cardiovascular death in patients with coronary artery disease: the Athero Genestudy. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26(12):2793-2799. doi: 10.1161/01.ATV.0000249406.92992.0d
5. Katrii T.,Vovk T.,Kravchenko N., etal. Influence of IgG separated from blood plasma of patients with ischemic stroke on the process platelet's proteins secretion. International Journal of Chemical and Biomolecular Science. 2015;4: 278-283.
6. Katrii T., Kravchenko N., Vovk T., et al. The influence of immunoglobulin class G from blood plasma of patients with stroke on the activity of some parameters of haemostasis system. Journal of Blood Coagulation and Fibrinolysis. 2016;27(8):876-881.
7. Katrii T. Savchuk O. Platelets aggregation under influence of IgG separated from the blood plasma of the patients with ischemic stroke. Visnyk KNU imeni Tarasa Shevchenka. Seria: Problemy rehuliatitsii fiziologichnykh funktsii. 2016;1(20):22-25.
8. Katrii T.,Raksha N., Halenova T. Effects of IgG from the serum of ischemic stroke patients on hemostasis. Journal of Biological Research. 2021;94:9582. doi:10.4081/jbr.2021.9582.
9. Meier L.A. BinstadtB.A. The Contribution of Auto antibodies to Inflammatory Cardiovascular Pathology. Front Immunol. 2018;9:911. doi: 10.3389/fimmu.2018.00911.

Надійшла до редколегії 16.09.2021
Отримано виправлений варіант 16.10.2021
Підписано до друку 16.10.2021

Received in the editorial 16.09.2021
Received version on 16.10.2021
Signed in the press on 16.10.2021

Т. Мариненко, соискатель,
Т. Галенова, канд. биол. наук,
Л. Остапченко, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИИ IgG ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ КОРОНАРНЫМИ СИНДРОМАМИ НА ПАРАМЕТРЫ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА

Ишемическая болезнь сердца – самая распространенная форма сердечно-сосудистых заболеваний, являющаяся одной из основных причин смертности и потери трудоспособности населения во всем мире. На сегодняшний день продолжается активный поиск эффекторных молекул эндогенного происхождения и их апробация на роль новых терапевтических мишеней и биологических маркеров, которые позволят прогнозировать риск развития ИБС, облегчат процесс мониторинга динамики заболеваемости на фоне терапии. Среди таких молекул особого внимания заслуживают иммуноглобулины класса G (IgG), которые аккумулируются в системном кровотоке в ответ на появление в организме нетипичных и модифицированных белков, а также их фрагментов, что является закономерным следствием активации воспалительных и гиперкоагуляционных реакций при ИБС. В данном исследовании в экспериментах in vitro, мы оценили эффекторный потенциал IgG, полученных из сыворотки крови пациентов с нестабильной стенокардией и инфарктом миокарда, на агрегацию тромбоцитов и секрецию эндотелина-1 и фактора фон Виллебранда клетками культуры HUVEC. Нами не было отмечено никакого влияния IgG, полученных из сыворотки крови пациентов с ИБС, как на активацию тромбоцитов, так и на динамику АДФ-зависимого процесса агрегации клеток. Однако при добавлении IgG к среде культивирования клеток HUVEC отмечалось усиление секреции клетками как фактора фон Виллебранда, так и эндотелина-1. Высокая концентрация фактора фон Виллебранда в системном кровотоке может быть причиной возрастания протромботического потенциала, в то время как аккумуляция эндотелина-1 может способствовать развитию гипоксии как миокарда, так и других периферических тканей. Все это может привести к нарушению процессов коагуляции и, как следствие, развитию и прогрессированию осложнений ИБС. Следует отметить, что антитела, полученные из сыворотки крови больных с прогрессирующей нестабильной стенокардией, оказывали максимально выраженный эффект. Полученные результаты раскрывают новые перспективы изучения эффекторных свойств антител и их роли в патогенезе ИБС.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, ишемическая болезнь сердца, иммуноглобулины класса G, агрегация тромбоцитов, фактор фон Виллебранда, эндотелин-1.

T. Marynenko, applicant,
T. Halenova, PhD,
L. Ostapchenko, Dr Sc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE EFFECT OF IgG FRACTION FROM BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROMES ON THE PARAMETERS OF PRIMARY HAEMOSTASIS

Coronary heart disease is the most common form of cardiovascular disease, which is one of the leading causes of death and disability worldwide. Today, the search for effector molecules of endogenous origin and investigation of their possible role as new therapeutic targets and biological markers are underway. Among such molecules, special attention should be paid to immunoglobulins G (IgG), which accumulate in the general bloodstream in response to the appearance in the body of atypical and modified proteins, as well as their fragments, which is a natural consequence of activation of inflammatory and hypercoagulation reactions under coronary heart disease. In this study, in experiments in vitro, we investigated the effect of IgG obtained from the serum of patients with unstable angina and myocardial infarction on platelet aggregation and endothelin-1 and von Willebrand factor secretion by cells in HUVEC culture. We did not observe any effect of IgG obtained from the serum of patients with coronary heart disease, both on platelet activation and on the dynamics of ADP-dependent cell aggregation. However, the addition of IgG to the HUVEC cell culture medium showed an increase in cell secretion of both von Willebrand factor and endothelin-1. High concentrations of von Willebrand factor in the systemic circulation can cause an increase in prothrombotic potential, while the accumulation of endothelin-1 may contribute to the development of hypoxia in both the myocardium and other peripheral tissues. All this can lead to disruption of coagulation processes, and, as a consequence, the development and progression of complications of coronary heart disease. It should be noted that antibodies obtained from the serum of patients with progressive unstable angina had the most pronounced effect. The obtained results reveal new perspectives in the study of the effector properties of antibodies and their role in the pathogenesis of coronary heart disease.

Keywords: myocardial infarction, unstable angina, coronary heart disease, immunoglobulins G, platelet aggregation, von Willebrand factor, endothelin-1.

ПСИХОФІЗІОЛОГІЧНІ СКЛАДОВІ СТРЕСОСТІЙКОСТІ КВАЛІФІКОВАНИХ СПОРТСМЕНІВ (АКАДЕМІЧНЕ ВЕСЛУВАННЯ)

Досліджено стан психофізіологічних функцій кваліфікованих спортсменів, що спеціалізуються в академічному веслуванні, у взаємозв'язку з рівнем стресу, емоційної стійкості та ефективності психічної саморегуляції і адаптивності. Для визначення стану психофізіологічних функцій, максимального темпу руху кисті (за тепінг-тестом) використовували діагностичний комплекс "Діагност-1" (М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб). Для вивчення стратегій подолання стресу (копінг-стратегій) і пріоритетного стилю подолання стресових ситуацій у спортсменів застосовували опитувальник "Виявлення індивідуальних копінг-стратегій" Е. Хейм. Для оцінювання наявного психічного стану (а саме рівня стресу), емоційної стійкості та ефективності психічної саморегуляції і адаптивності було застосовано тест вибору кольорів М. Люшера. У досліджуваній групі виявлено превалювання респондентів з високим рівнем стресостійкості, високим та середнім рівнем емоційної стійкості, середньою ефективністю психічної саморегуляції і адаптивності. Найбільш поширеними копінг-стратегіями серед обстежених були: у когнітивній сфері – збереження самовладання, в емоційній – оптимізм, у поведінковій – відволікання. Загалом серед спортсменів кількісно переважали адаптивні стратегії подолання стресу порівняно з неадаптивними і відносно адаптивними. Специфічними психофізіологічними маркерами стресостійкості, ефективності психічної саморегуляції та адаптивності обстежених спортсменів виявилися показники сили й ефективності сенсомоторної діяльності. Емоційна стійкість асоціювалася із силою і функціональною рухливістю нервових процесів. Виявлені взаємозв'язки показників стану психофізіологічних функцій із психологічними характеристиками спортсменів можуть мати прогностичну цінність і використовуватися для вдосконалення в зазначеному виді спорту.

Ключові слова: спортсмени високої кваліфікації, стресостійкість, стан психофізіологічних функцій, академічне веслування.

Вступ. Одним із основних критеріїв фізичного та психічного здоров'я спортсмена, на думку багатьох дослідників, можна вважати стресостійкість та спроможність долати будь-які стресові ситуації впродовж тренувально-змагальної діяльності [3, 14, 19, 22]. Труднощі в міжособистісних відносинах, у навчанні можуть перетворюватися на стрес, тим самим підвищувати ймовірність отримання травми, отже, тимчасового чи остаточного завершення кар'єри [1, 30]. Слід зазначити, що низька стресостійкість при високому рівні стресу веде до формування емоційного вигорання (повного або часткового відключення емоцій у відповідь на психотравмувальні впливи) і навіть професійної деформації особистості [23].

Варто наголосити, що фізичне виховання розглядається як один із основних педагогічних прийомів формування у людини вміння ефективно використовувати стратегії подолання стресу (копінг-стратегії) [2, 18]. Із практичного погляду формування стратегій подолання будь-яких життєвих труднощів пов'язана з важливістю і необхідністю підтримання досягнутої успішності спортивної діяльності та психологічного благополуччя спортсмена [20, 30, 37]. За результатами попередніх досліджень наявність травм у спортсменів в ігрових видах спорту позначилася на помітному зменшенні частоти використання адаптивних емоційних копінг-стратегій і, відповідно, збільшенні частоти використання неадаптивних емоційних копінг-стратегій [26]. Прямо протилежна тенденція спостерігалася щодо когнітивних і поведінкових копінг-стратегій: наявність травм позначилася на помітному зменшенні частоти використання неадаптивних когнітивних і відносно адаптивних поведінкових копінг-стратегій і, відповідно, збільшенні частоти використання адаптивних когнітивних і поведінкових копінг-стратегій обстеженими спортсменами. Слід зазначити, що загалом серед обстежених хлопців і дівчат на когнітивних стратегіях подолання стресу наявність травм позначилася менш суттєво, тоді як на поведінкових копінг-стратегіях – найбільш помітно. У хлопців наявність спортивних травм збільшувала частоту використання адаптивних поведінкових копінг-стратегій і суттєво не позначилася на когнітивних і емоційних стратегіях подолання стресу [26]. Безперечно, доцільно досліджувати стрес як

комплекс психологічних, психофізіологічних, фізіологічних реакцій спортсменів на стресову ситуацію [1, 24, 33, 34].

Слід зауважити, що поряд із цим актуальним завданням тренерів при формуванні команди, розробці стратегії тренувань спортсменів є розуміння прогностичних критеріїв та оцінювання показників, що характеризують стан психофізіологічних функцій. Проте, незважаючи на досить високу зацікавленість як дослідників, так і тренерів, кількісні та якісні критерії прогнозування стану психофізіологічних функцій на даний час залишаються недостатньо розробленими. Наразі відсутній єдиний підхід до методики дослідження та оцінювання результатів: зарубіжні автори займаються проблемами дослідження і оцінювання психофізіологічних характеристик спортсменів з використанням переважно психологічних методик, що безумовно призводить до недооцінювання біологічної компоненти [8, 31, 38, 39, 40]. Традиційно в Україні такі дослідження проводять лікарі та фізіологи, що сприяло посиленню уваги до фізіологічних механізмів і, певною мірою, недооцінюванню психологічних механізмів поведінкових реакцій [4, 6, 16, 21].

Для дослідження стану психофізіологічних функцій під керівництвом М. В. Макаренка розроблена комп'ютерна система "Діагност-1", яка дозволяє отримувати, автоматично реєструвати та статистично обробляти такі показники: латентні періоди простої зорово-моторної реакції (ЛП ПЗМР), реакції вибору одного із трьох сигналів (ЛП РВ1-3), вибору двох із трьох сигналів (ЛП РВ2-3); реакції на рухомий об'єкт, а також швидкості, якості та кількості перероблення інформації у двох режимах – нав'язаного ритму та зворотного зв'язку, що визначають функціональну рухливість нервових процесів (ФРНП) та силу нервових процесів (СНП) [12, 13, 14, 17]. Саме показники швидкості, якості та кількості перероблення інформації у режимах нав'язаного ритму та зворотного зв'язку надають можливість оцінити здатність вищих відділів центральної нервової системи забезпечувати максимально можливий для кожного індивіда рівень швидкої дії за безпомилковим диференціюванням позитивних і гальмівних подразників з урахуванням швидкості, якості та кількості їх перероблення. Ці показники зумовлені ви-

сокогенетично детермінованими властивостями основних нервових процесів, а також властивостями функцій пам'яті, мислення, сприйняття та уваги [5, 12].

Таким чином, перспективним та актуальним вбачається виявлення взаємозв'язків стану психофізіологічних функцій кваліфікованих спортсменів з рівнем існуючого стресу, емоційної стійкості та ефективності психічної саморегуляції і адаптивності з метою прогнозування розвитку емоційного стресу в умовах напруженої спортивної діяльності.

Метою дослідження було визначення стану психофізіологічних функцій кваліфікованих спортсменів, що спеціалізувалися в академічному веслуванні, у взаємозв'язку з рівнем існуючого стресу, емоційної стійкості та ефективності психічної саморегуляції і адаптивності.

Об'єкт і методи досліджень. У дослідженні брали участь 8 кваліфікованих спортсменів (майстри спорту, майстри спорту міжнародного класу і заслужені майстри спорту), чоловіки віком 22–30 років, вид спорту – академічне веслування, спортивний стаж 7–15 років. У всіх обстежуваних домінують права рука.

Для визначення стану нейродинамічних функцій, максимального темпу руху кисті (за тепінг-тестом) використовували діагностичний комплекс "Діагност-1" (М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб) [15]. Відповідно до мети роботи досліджувалися показники простої зорово-моторної реакції (ПЗМР) та реакції вибору одного із трьох сигналів (РВ1-3) для правої та лівої руки, показники реакції вибору двох із трьох сигналів (РВ2-3): латентні періоди та складові латентних періодів – моторні компоненти реакцій ПЗМР, РВ1-3, РВ2-3 та час центральної обробки інформації в реакціях вибору, а також показники сили і функціональної рухливості нервових процесів, точність реакції на рухомий об'єкт тощо [5, 15]. Як розумове навантаження для переробки інформації застосовувалися предметні символи (геометричні фігури). Крім того, досліджувалася динамічна м'язова витривалість (за показниками тепінг-тесту) окремо для правої та лівої кисті [15].

Для вивчення стратегій подолання стресу (копінг-стратегій) і визначення пріоритетного стилю подолання стресових ситуацій у спортсменів було використано опитувальник "Виявлення індивідуальних копінг-стратегій" Е. Хейм [36], який дозволяє досліджувати 26 ситуаційно-специфічних варіантів копінгу, розподілених відповідно до трьох основних сфер психічної діяльності на когнітивний, емоційний і поведінковий копінг-механізми. Види копінг-поведінки Е. Хейм розподілив на три основні групи за ступенем їх адаптивних можливостей: адаптивні, відносно адаптивні і неадаптивні [36].

Для оцінювання наявного психічного стану спортсменів (а саме рівня існуючого стресу), емоційної стійкості та ефективності психічної саморегуляції і адаптивності було застосовано тест вибору кольорів М. Люшера [10, 11]. Показник рівня існуючого стресу (РС) у межах 0–4 бали характеризував низький РС, 5–8 балів – середній і 9–12 балів – високий рівень стресу. Інтегративний показник емоційної стійкості за тестом (ЕС) також обчислювався в балах: 3 бали присвоювали спортсмену, якщо він емоційно стійкий, 2 бали – за недостатності емоційної стійкості та 1 бал – при появі тривоги, ознак емоційної нестійкості. Методика до того ж дозволяє діагностувати рівень гармонійності та внутрішньої оптимальності нервово-психічного стану спортсменів за коефіцієнтом Вальнефера (КВ). За значеннями КВ контингент обстежуваних був розділений на осіб з високим рівнем саморегуляції та адаптивності (КВ дорівнює 1–10 у. о.), середнім рівнем саморегуляції та адаптивності (КВ 11–20 у. о.), ознаками перевтомлення і зниження рівня саморегуляції та адаптивності (КВ більше 20 у. о.).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою методів непараметричної статистики. Критерій Спірмена застосовували для дослідження кореляційних зв'язків.

При проведенні комплексних біологічних досліджень за участю спортсменів відповідно до принципів біоетики дотримувалися розробленої в лабораторії теорії і методики спортивної підготовки і резервних можливостей спортсменів НДІ НУФВСУ "Програми комплексного біологічного дослідження особливостей функціональних можливостей спортсменів", а також законодавства України про охорону здоров'я та Гельсінської декларації 2000 р., директиви Європейського товариства 86/609 щодо участі людей в медико-біологічних дослідженнях [17]. Дослідження проводили на базі Науково-дослідного інституту НУФВСУ.

Результати та їх обговорення. У групу обстежених увійшли спортсмени, що займаються циклічним видом спорту, який характеризується повторенням одних і тих самих рухових актів і високою функціональною стійкістю центральної нервової системи (ЦНС) до монотонії. Спеціальна витривалість у циклічних видах спорту, як відомо, залежить від довжини дистанції [19, 22]. Веслування на дистанції 500-1000 м характеризується навантаженнями анаеробно-аеробного характеру і стійкістю ЦНС до недостатнього кисневого постачання [22]. Крім того, робота на витривалість формує високу стійкість ЦНС до перешкод. Особлива здатність до тривалих циклічних навантажень притаманна спортсменам із сильною, рівноваженою нервовою системою і невисоким рівнем рухливості (флегматикам) [22].

Загалом серед обстежених спортсменів виявлено превалювання респондентів з високим рівнем стресостійкості (низьким рівнем наявного стресу), високим та середнім рівнем емоційної стійкості, середньою ефективністю психічної саморегуляції та адаптивності. Виявлено, що у респондентів обстеженої групи рівень існуючого стресу (РС) низький або відсутній (87,5 %), середній (12,5 %), а високий РС не виявлено. Найбільш поширеними копінг-стратегіями серед обстежених спортсменів були: у когнітивній сфері – збереження самовладання; в емоційній – оптимізм; у поведінковій – відволікання. Загалом серед спортсменів кількісно переважало використання адаптивних стратегій порівняно з неадаптивними і відносно адаптивними.

Виявлено, що використання когнітивних адаптивних стратегій було характерним для 62,5 % спортсменів; когнітивних відносно адаптивних – для 37,5 %. Когнітивних неадаптивних не виявлено. Емоційні адаптивні копінг-стратегії були характерні для 100 % спортсменів. Емоційних неадаптивних та емоційних відносно адаптивних не виявлено. Використання поведінкових адаптивних копінг-стратегій виявлено у 50,0 % спортсменів; поведінкових неадаптивних – у 12,5 %; відносно адаптивних поведінкових – у 37,5 %.

За результатами попередніх досліджень виявлено відмінності психофізіологічних характеристик між групами спортсменів (веслування на байдарках і каное, n=43) з адаптивними і неадаптивними поведінковими копінг-стратегіями. Спортсмени з неадаптивними стратегіями подолання стресу (активне уникання, відступ) відрізнялися більш низькою функціональною рухливістю нервових процесів і меншим часом моторного компонента складної реакції вибору. Виявлено тенденцію до збільшення часу центральної обробки інформації у складній реакції вибору у спортсменів-веслувальників з неадаптивними копінг-стратегіями [25]. Досліджено стан психофізіологічних функцій кваліфікованих спортсменок-гандболісток у взаємозв'язку зі стратегіями подолання

стресу: більш витривалі спортсменки (із сильною нервовою системою) із конструктивних стратегій обирали стратегію самоконтролю, а менш витривалі – пошук соціальної підтримки, планування розв'язання проблеми, позитивну переоцінку; із неконструктивних стратегій більш витривалі спортсменки обирали стратегії дистанціювання, втечі-уникнення, а менш витривалі – конфронтативний копінг [27]. Крім того, виявлено, що швидкість проведення нервового імпульсу взаємопов'язана із психологічними характеристиками спортсменів за тестом М. Люшера, а саме з показниками рівня існуючого стресу, емоційної стійкості та ефективності психічної саморегуляції і адаптивності. Отже, можна зробити припущення, що вищевказані показники можуть служити специфічними психологічними маркерами змін функціонального стану нервово-м'язового апарата молодих спортсменів [29].

Для досягнення високих результатів у циклічних видах спорту велику роль відіграє сила нервових процесів [14, 19]. Слід зазначити, що латентні періоди складної реакції вибору можуть розглядатися як додаткові показники сили і функціональної рухливості нервових процесів [14, 15]. Спортсмени-вслушальники за результатами попередніх досліджень порівняно з нетренованими особами продемонстрували вищу м'язову витривалість при рухах кисті домінантної руки та вищу швидкість обробки інформації у ЦНС, що виявлялося у швидших реакціях вибору двох із трьох сигналів та коротшому часі центральної обробки інформації [28]. Отримані дані підтверджують результати багатьох вітчизняних і зарубіжних дослідників про вплив на формування та стан нейродинамічних функцій у різні вікові періоди фізичних навантажень, зокрема занять спортом [7, 9, 32, 35]. Відомо, що регулярні заняття одним із видів спорту відбива-

ються на показниках психофізіологічних функцій, властивостях основних нервових процесів, психологічних характеристиках спортсменів і осіб, що займаються руховою активністю [14, 19].

Кореляційний аналіз отриманих даних виявив взаємозв'язок рівня стресу за тестом М. Люшера в обстежених спортсменів із силою нервових процесів, яка визначалася за кількістю помилок упродовж тривалих сенсомоторних навантажень у режимі нав'язаного ритму, та ефективністю сенсомоторної діяльності (табл. 1). У спортсменів із вищим рівнем сили нервових процесів виявився нижчим рівень наявного стресу. Проте ефективність сенсомоторної діяльності, що визначалася за часом мінімальної експозиції сигналів у режимі зворотного зв'язку (тест "120 сигналів"), була нижчою у спортсменів із нижчим рівнем наявного стресу.

Кореляційний аналіз отриманих даних також виявив взаємозв'язок ефективності психічної саморегуляції та адаптивності в обстежених спортсменів із показниками сили та ефективності сенсомоторної діяльності (табл. 1). Найбільш оптимальний нервово-психічний стан (відповідно до коефіцієнта Вальнефера) був пов'язаний з більшою силою нервових процесів і меншою ефективністю сенсомоторної діяльності, що визначалася за часом мінімальної експозиції сигналів у режимі зворотного зв'язку (тест "120 сигналів").

Кореляційний аналіз отриманих даних виявив взаємозв'язок емоційної стійкості з деякими показниками сили нервових процесів у режимі зворотного зв'язку і рівнем функціональної рухливості нервових процесів у режимі нав'язаного ритму (табл. 1). Спортсмени з вищим рівнем емоційної стійкості продемонстрували більшу силу і функціональну рухливість нервових процесів.

Таблиця 1. Кореляційні зв'язки психологічних характеристик за тестом М. Люшера та показників стану психофізіологічних функцій спортсменів (n=8), r_S

Показники	Кореляційні зв'язки, r _S
Рівень стресу – мінімальний час експозиції сигналів (тест "120 сигналів", режим зворотного зв'язку), мс	-0,75*
Рівень стресу – кількість помилок (швидкість пред'явлення сигналів 50 сигн/хв, режим нав'язаного ритму)	0,72*
Рівень стресу – кількість помилок (швидкість пред'явлення сигналів 70 сигн/хв, режим нав'язаного ритму)	0,72*
Коефіцієнт Вальнефера – мінімальний час експозиції сигналів (тест "120 сигналів", режим зворотного зв'язку), мс	-0,71*
Коефіцієнт Вальнефера – кількість помилок (швидкість пред'явлення сигналів 50 сигн/хв, режим нав'язаного ритму)	0,77*
Показник емоційної стійкості – кількість оброблених сигналів в інтервалі 30-60 с (тест 5 хв, режим зворотного зв'язку)	0,79*
Показник емоційної стійкості – рівень функціональної рухливості нервових процесів (режим нав'язаного ритму), сигн/хв	0,83*

Примітка: * p < 0,05.

Таким чином, у досліджуваній групі спортсменів виявлено превалювання респондентів з високим рівнем стресостійкості, високим та середнім рівнем емоційної стійкості, середньою ефективністю психічної саморегуляції та адаптивності. Найбільш поширеними копінг-стратегіями серед обстежених спортсменів були: у когнітивній сфері – збереження самовладання, в емоційній – оптимізм, у поведінковій – відволікання. Загалом серед спортсменів кількісно переважало використання адаптивних стратегій подолання стресу порівняно з неадаптивними і відносно адаптивними. Специфічними психофізіологічними маркерами стресостійкості, ефективності психічної саморегуляції та адаптивності обстежених спортсменів виявилися показники сили і ефективності

сенсомоторної діяльності. Емоційна стійкість обстежених спортсменів асоціювалася із силою і функціональністю рухливості нервових процесів. Виявлені взаємозв'язки показників стану психофізіологічних функцій із психологічними характеристиками спортсменів можуть мати прогностичну цінність і використовуватися для вдосконалення в зазначеному виді спорту.

Перспективи подальших досліджень. Цікавим є подальше дослідження із проведенням порівняльного аналізу стану психофізіологічних функцій у спортсменів, що спеціалізуються в різних видах спорту та в процесі професійної діяльності зазначають вплив навантажень різних типів.

Висновки. 1. Більшість обстежених спортсменів продемонстрували високий рівень стресостійкості, високий та

середній рівень емоційної стійкості, середню ефективність психічної саморегуляції та адаптивності. Найбільш поширеними копінг-стратегіями серед обстежених спортсменів були: у когнітивній сфері – збереження самовладання, в емоційній – оптимізм (адаптивні стратегії), у поведінковій – відволікання (відносно адаптивна стратегія).

2. Специфічними психофізіологічними маркерами стресостійкості, ефективності психічної саморегуляції та адаптивності обстежених спортсменів виявилися показники сили і ефективності сенсомоторної діяльності. Емоційна стійкість обстежених спортсменів асоціювалася із силою і функціональною рухливістю нервових процесів.

Список використаних джерел

1. Бочавер К. А. Совладающее поведение в профессиональном спорте: феноменология и диагностика / К. А. Бочавер, Л. М. Довжик // Электронный журнал "Клиническая и специальная психология". – 2016. – Т. 5, № 1. – С. 1-18. – doi: 10.17759/psyclin.2016050101
2. Вейнберг Р. С. Психология спорта / Р. С. Вейнберг, Д. Голд. – К.: Олімп. л-ра, 2014.
3. Ильин Е. П. Психофизиология состояний человека / Е. П. Ильин. – СПб.: Питер, 2005.
4. Кокун О. М. Оптимизация адаптационных возможностей людини: психофизиологический аспект обеспечения деятельности: монография / О. М. Кокун. – К.: Міленіум, 2004.
5. Кокун О. М. Психофизиология: навч. посіб. / О. М. Кокун. – К.: Центр навч. літ-ри, 2006.
6. Оцінювання психофізіологічних станів у спортсменів / Г. Коробейников, Є. Приступа, Л. Коробейникова, Ю. Бріскін. – Львів: ЛДУФК, 2013.
7. Підготовленість футболістів 13–14 років з різними індивідуально-типологічними властивостями вищих відділів центральної нервової системи / В. С. Лизогуб, В. О. Пустовалов, В. О. Супрунович, Ю. В. Коваль // Наука і освіта. – 2014. – № 8. – С. 114-118.
8. Сучасні підходи до реалізації відбору футболістів високої кваліфікації за показниками нейродинамічних властивостей вищих відділів центральної нервової системи / В. Лизогуб, В. Пустовалов, В. Супрунович, С. Гречуха // Слобожанський науково-спортивний вісник. – 2017. – № 2. – С. 47-52. – doi:10.15391/sns.v.2017-2.008
9. Лысенко Е. Н. Влияние на проявление нейродинамических свойств спортсменов полового диморфизма и напряженной физической работы / Е. Н. Лысенко, О. А. Шинкарук // Наука и спорт: современные тенденции. – 2015. – Т. 6, № 1. – С. 11-18.
10. Люшер М. Цветовой тест Люшера / М. Люшер. – СПб.: М., 2002.
11. Маврич С. І. Психологічні особливості працівників з різним психофізіологічним статусом, зайнятих у вугледобувній та хімічній галузі екологічно небезпечних районів Луганської області / С. І. Маврич, Т. П. Тананакіна // Перспективи медицини та біології. – 2013. – № 5(2). – С. 159-166.
12. Макаренко М. В. Нейродинамічні властивості спортсменів різної кваліфікації та спеціалізації / М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб, О. П. Безкопильний // Актуальні проблеми фізичної культури і спорту. – 2004. – № 4. – С. 105-109.
13. Макаренко Н. Формирование свойств нейродинамических функций у спортсменов / Н. Макаренко, В. Лизогуб, А. Безкопильный // Наука в олимпийском спорте. – 2005. – № 2. – С. 80-85.
14. Макаренко М. В. Онтогенез психофізіологічних функцій людини / М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб. – Черкаси, 2011.
15. Макаренко М. В. Методичні вказівки до практикуму з диференціальної психофізіології та фізіології вищої нервової діяльності людини / М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб, О. П. Безкопильний. – К.; Черкаси, 2014.
16. Психофизиология: навч. посіб. / М. Ю. Макаручук, Т. В. Куценко, В. І. Кравченко, С. А. Данилов. – К., 2011.
17. Медико-біологічне забезпечення підготовки спортсменів збірних команд України з олімпійських видів спорту / О. А. Шинкарук, О. М. Лисенко, Л. М. Гуніна та ін.; за заг. ред. О. А. Шинкарук. – К., 2009.
18. Пічурін В. В. Копінг-стратегії студентів і психологічна готовність до професійної праці / В. В. Пічурін // Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту. – 2015. – № 2. – С. 53-59.
19. Платонов В. Н. Система подготовки спортсменов в олимпийском спорте. Общая теория и ее практические приложения: учебник [для тренеров]: в 2 кн. / В. Н. Платонов. – К.: Олимпийская лит-ра, 2015. – Кн. 1.
20. Рассказова Е. И. Копинг-стратегии в структуре деятельности и саморегуляции: психометрические характеристики и возможности применения методики COPE / Е. И. Рассказова, Т. О. Гордеева, Е. Н. Осин // Психология. Журнал ВШЭ. – 2013. – № 1. – С. 82-118.
21. Физиология спортивной деятельности / А. С. Ровный, В. М. Ильин, В. С. Лизогуб, О. О. Ровна. – Х.: ХНАДУ, 2015.
22. Солодков А. С. Физиология человека. Общая. Спортивная. Возрастная: учебник / А. С. Солодков, Е. Б. Солодков. – М., 2001.
23. Тукаев С. В. Психологические и нейрофизиологические аспекты развития синдрома эмоционального выгорания / С. В. Тукаев, Т. В. Ващека, И. Г. Зима // Актуальные аспекты внутренней медицины: коллектив. науч. монография / под ред. В. П. Волкова. – Новосибирск: Изд-во "СибАК", 2013. – С. 86-107. – doi: 10.13140/RG.2.1.2429.3845

24. Психофизиологическое состояние спортсменов с разным уровнем личностной и ситуативной тревожности в сложнокоординационных видах спорта [Электронный ресурс] / С. В. Федорчук, С. В. Тукаев, Е. Н. Лысенко и др. // Спортивная медицина и физическая реабилитация. – 2017. – № 1. – С. 26-32. – Режим доступа: <https://doi.org/10.32652/spmed.2017.1.26-32>

25. Федорчук С. Психофизиологические маркеры адаптивных и неадаптивных копинг-стратегий квалифицированных спортсменов (вслухания на байдарках и каное) / С. В. Федорчук, О. Лисенко, О. Шинкарук // Спортивная наука Украины. – 2018. – № 2(84). – С. 40-47.

26. Застосування копінг-стратегій у практиці сучасного гандболу [Електронний ресурс] / С. В. Федорчук, Д. Д. Іваскевич, О. В. Борисова та ін. // Спортивна медицина і фізична реабілітація. – 2019. – № 1. – С. 10-15. – Режим доступа: <https://doi.org/10.32652/spmed.2019.1.10-15>

27. Копінг-стратегії у зв'язку з психофізіологічними характеристиками кваліфікованих спортсменок-гандболісток [Електронний ресурс] / С. В. Федорчук, Д. Д. Іваскевич, О. В. Борисова та ін. // Спортивна медицина, фізична терапія та ерготерапія. – 2020. – № 2. – С. 3-10. – Режим доступа: <https://doi.org/10.32652/spmed.2020.2.3-10>

28. Стан нейродинамічних функцій і динамічна м'язова витривалість кваліфікованих спортсменів-вслухальників [Електронний ресурс] / С. В. Федорчук, В. Кравченко, К. Фібах та ін. // Спортивна медицина, фізична терапія та ерготерапія. – 2021. – № 1. – С. 128-133. – Режим доступа: <https://doi.org/10.32652/spmed.2021.1.128-133>

29. Халаяк Т. Ефективність психічної саморегуляції, емоційна стійкість і стрес-уразливість спортсменів-тенісистів за методикою вибору кольорів у зв'язку з функціональним станом нервово-м'язового апарату / Т. Халаяк, О. Колосова, С. Федорчук // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. – 2017. – № 2(23). – С. 51-55.

30. Шинкарук О. Стрес та його вплив на змагальну та тренувальну діяльність спортсменів / О. Шинкарук, О. Лисенко, С. Федорчук // Фізична культура, спорт та здоров'я нації: зб. наук. праць. – Вінниця: ТОВ "Планер", 2017. – Вип. 3 (22). – С. 469-476.

31. Academic performance of medical students: a predictable result? / G. Bastias, L. Villarreal, D. Zuniga et al. // Rev. Med. Chil. – 2000. – Vol. 128, № 6. – P. 671-678.

32. Fedorchuk S. Neurodynamic properties and psychological characteristics of high qualification sportsmen with different sports trainings / S. Fedorchuk, O. Lysenko, V. Romanyuk // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Problems of Physiological Functions Regulation. – 2018. – № 24(1). – P. 27-31. – doi: http://dx.doi.org/10.17721/2616_6410.2018.24.27-31

33. The psychophysiological state of highly qualified athletes performing in diving with different levels of anxiety / S. Fedorchuk, S. Tukaiev, O. Lysenko, O. Shynkaruk // European Psychiatry, Elsevier. – 2018. – V. 48. – S. 681.

34. Fedorchuk S. Constructive and non-constructive coping strategies and psychophysiological properties of elite athletes / S. Fedorchuk, O. Lysenko, O. Shynkaruk // European Psychiatry, Elsevier. – 2019. – V. 56. – S. 306.

35. Fedorchuk S. The state of psychophysiological functions in handball players with different experience of sports training / S. Fedorchuk, Y. Petrushevska // Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Biology. – 2020. – V. 81, № 2. – P. 42-45. – doi: [10.17721/1728_2748.2020.81.42-45](https://doi.org/10.17721/1728_2748.2020.81.42-45)

36. Heim E. Coping based intervention strategies / E. Heim // Patient education and counseling. – 1995. – V. 26(1-3). – P. 145-151.

37. Gender differences in competitive anxiety and coping strategies within junior handball national team / D. Ivaskевич, O. Borysova, S. Fedorchuk et al. // Journal of Physical Education and Sport. University of Pitesti, Romania (EUP). – 2019. – V. 19(2). – P. 1242-1246. – doi: [10.7752/jpes.2019.02180](https://doi.org/10.7752/jpes.2019.02180)

38. O'Sullivan D. Personality characteristics of male and female participants in team sports / D. O'Sullivan, M. Zuckerman, M. Kraft // Personality and Individual Differences. – 1998. – Vol. 25. – P. 119-128.

39. Tomczak M. Selected psychological determinants of sports results in senior fencers / M. Tomczak, M. Walczak, G. Breczewski // Human movement. – 2012. – Vol. 13(2). – P. 161-169.

40. Yeung R. R. The effect of exercise on mood state / R. R. Yeung // Journal of Psychosomatic Research. – 1996. – Vol. 40(2). – P. 123-141.

Reference (Scopus)

1. Bochaver KA, Dovzhik LM. Sovladayushcheye povedeniye v professional'nom sporте: fenomenologiya i diagnostika [Coping behavior in professional sports: phenomenology and diagnostics]. 2016; 5(1): 1-18. doi: 10.17759/psyclin.2016050101 Russian.
2. Weinberg RS, Gould D. Psykhoholohiya sportu [Psychology of sport]. Kyiv: Olympik Literature. 2014: 335. Ukrainian.
3. Ilyin YeP. Psikhofiziologiya sostoyaniy cheloveka [Psychophysiology of human states]. SPb.: Pyter, 2005: 412. Russian.
4. Kokun OM. Optymizatsiya adaptatsionnykh mozhlyvostey lyudyny: psikhofiziologichnyy aspekt zabezpechennya diyal'nosti: Monohrafiya [Optimization of human adaptive capacity: psychophysiological aspect of activity support: Monograph]. K.: Millennium, 2004: 265. Ukrainian.
5. Kokun OM. Psikhofiziologiya. Navchal'nyy posibnyk [Psychophysiology. Tutorial]. K.: Center for Educational Literature, 2006: 184. Ukrainian.

6. Korobeynikov H, Prystupa YE, Korobeynikova L, Briskyn YU. Otsinyuvannya psykhoфизиологічних станів у спорт-сменів [Evaluation of psychophysiological states in athletes]. Lviv. 2013: 312. Ukrainian.
7. Lyzohub VS, Pustovalov VO, Suprunovich VO, Koval' YuV. Pidhotovenist' futbolistiv 13–14 rokiv z riznymi individual'no-typologichnymi vlastyvyostyamy vyshchykh viddiliv tsentral'noyi nervovoyi systemy [Preparedness of football players aged 13–14 with different individual-typological properties of the higher departments of the central nervous system]. Science and Education. 2014;8:114-118. Ukrainian.
8. Lyzohub VS, Pustovalov VO, Suprunovich VO, & Grechukha SV. Modern approaches to the implementation of the selection of high-skilled football players according to the indicators of neurodynamic properties of the higher parts of the central nervous system. Slobozhanskyi Naukovo-Sportyvnyi Visnyk. (Slobozhansky Scientific and Sport Herald). 2017;2:81-85. Ukrainian.
9. Lysenko YeN, Shynkaruk OA. Vliyanie na proyavleniye neyrodinamicheskikh svoystv sportsmenov polovogo dimorfizma i napryazhennoy fizicheskoy raboty [Influence on the manifestation of neurodynamic properties of athletes of sexual dimorphism and strenuous physical work]. Science and Sport: Modern Trends. 2015;6(1):11-18. Russian.
10. Lyusher M. Tsvetovoy test Lyushera [Luscher color test]. SPb., M. 2002: 192. Russian.
11. Mavrych SI, Tananakina TP. Psykholohichni osoblyvosti pratsivnykiv z riznym psykhoфизиологічним statusom, zaynyatykh u vuhledobuvnyi ta khimichnyi haluzi ekolohichno nebezpechnykh rayonakh Luhans'koyi oblasti [Psychological features of workers with different psychophysiological status, employed in the coal mining and chemical industries of ecologically dangerous areas of Luhansk region]. Prospects of medicine and biology. 2013;5(2):159-166. Ukrainian.
12. Makarenko MV, Lyzohub VS, Bezokopyl'nyy OP. Neyrodinamichni vlastyvyosti sportsmeniv riznoyi kvalifikatsiyi ta spetsializatsiyi [Neurodynamic properties of athletes of different qualifications and specialization]. Actual problems of physical culture and sports. 2004;4:105-109. Ukrainian.
13. Makarenko N, Lizogub V, Bezokopyl'nyy A. Formirovaniye svoystv neyrodinamicheskikh funktsiy u sportsmenov [Formation of the properties of neurodynamic functions in athletes]. Science in the Olympic sport. 2005;2:80-85. Russian.
14. Makarenko MV, Lyzohub VS. Ontogenez psykhoфизиологічних funktsiy lyudyny [Ontogenesis of psychophysiological functions of a person]. Cherkasy, 2011: 256. Ukrainian.
15. Makarenko MV, Lyzohub VS, Bezokopyl'nyy OP. Metodichni kvazivky do praktykumu z dyferentsial'noyi psykhoфизиологіy ta fiziolohiyi vyshchoyi nervovoyi diyal'nosti lyudyny [Methodical instructions to the practical works on differential psychophysiology and physiology of higher human nervous activity]. Kyiv-Cherkasy, 2014: 102. Ukrainian.
16. Makarchuk MYu, Kutsenko TV, Kravchenko VI, Danylov SA. Psykhoфизиологія: navchal'nyy posibnyk [Psychophysiology: textbook]. K. 2011: 329. Ukrainian.
17. Shynkaruk OA, Lysenko OM, Hunina LM, Karlenko VP, Zemtsova II, Olishchevskiy SV et al. Medyko-biologichne zabezpechennya pidhotovky sportsmeniv zbirnykh komand Ukrainy z olimpiys'kykh vydiv sportu [Medicobiological support of training of athletes of national teams of Ukraine on Olympic sports]. O.A. Shynkaruk (Ed.). Kyiv. 2009: 144. Ukrainian.
18. Pichurin VV. Koping-stratehiyi studentiv i psykholohichna hotovnist' do profesiynoyi pratsi [Coping-strategies of students and psychological readiness for professional work]. Pedagogy, psychology and medical and biological problems of physical education and sports. 2015;2:53-59. Ukrainian.
19. Platonov VN. Sistema podgotovki sportsmenov v olimpiyskom sporte. Obshchaya teoriya i yeye prakticheskiye prilozheniya: uchebnik [dlya trenerov]: v 2 kn. [The system of training athletes in the Olympic sport. General theory and its practical applications: a textbook [for trainers]: in 2 books]. K.: Olimp. Lit. Book 1; 2015: 680. Russian.
20. Rasskazova Yel, Gordeyeva TO, Osin YeN. Koping-strategii v strukture deyatelnosti i samoregulyatsii: psikhometricheskiye kharakteristiki i vozmozhnosti primeneniya metodiki COPE [Coping strategies in the structure of activity and self-regulation: psychometric characteristics and the possibility of using the COPE method]. Psychology. HSE Journal. 2013;1:82-118. Russian.
21. Rovnyy AS, Il'yin VM, Lyzohub VS, Rovna OO. Fiziolohiya sportyvnoyi diyal'nosti [Physiology of sports activity]. Kharkiv. 2015: 556. Ukrainian.
22. Solodkov AS, Sologub YeB. Fiziologiya cheloveka. Obshchaya. Sportivnaya. Vozrastnaya: Uchebnik [Human physiology. The total. Sports. Age: Textbook]. M. 2001: 620. Russian.
23. Tukaiev SV, Vasheka TV, Zima IG. Psikhologicheskoye i neyrofiziologicheskoye aspekty razvitiya sindroma emotsional'nogo vygoraniya [Psychological and neurophysiological aspects of the development of burnout syndrome]. Actual aspects of internal medicine: collective scientific monograph. [ed. VP Volkov]. Ed. SibAK, Novosibirsk. 2013: 86-107. doi: 10.13140/RG.2.1.2429.3845 Russian.
24. Fedorchuk SV, Tukaiev SV, Lysenko YeN, Shynkaruk OA, Voronova VI. Lichnostnoy i situativnoy trevozhnosti v slozhnokoordinatsionnykh vidakh sporta [Psychophysiological state of athletes with different levels of personal and situational anxiety in complex coordination sports]. Sports medicine and physical rehabilitation. 2017;1:26-32. https://doi.org/10.32652/spmed.2017.1.26-32 Russian.
25. Fedorchuk S, Lysenko O, Shynkaruk O. Psykhoфизиологічні markery adaptivnykh i neadaptivnykh koping-stratehiy kvalifikovanykh sport-smeniv (vesluyannya na baydarkakh i kanoe) [Psychophysiological markers of adaptive and non-adaptive coping strategies of qualified athletes (kayaking and canoeing)]. Sports Science of Ukraine. 2018;2(84):40-47. Ukrainian.
26. Fedorchuk SV, Ivaskevych DD, Borysova OV, Kohut IO, Marynych VL, Tukaiev SV, Petrushevs'kyy Yel. Zastosuvannya koping-stratehiy u praktytsi suchasnoho handbolu [Application of coping strategies in the practice of modern handball]. Sports Medicine and Physical Rehabilitation. 2019;1 10-15. https://doi.org/10.32652/spmed.2019.1.10-15 Ukrainian.
27. Fedorchuk SV, Ivaskevych DD, Borysova OV, Kohut IO, Marynych VL, Tukaiev SV, Petrushevs'kyy Yel. Koping-stratehiy u zv'yazku z psykhoфизиологічnymi kharakterystykami kvalifikovanykh sport-smenok-handbolistok [Coping-strategies in connection with psychophysiological characteristics of qualified handball players]. Sports medicine, physical therapy and ergotherapy. 2020;2:3-10. https://doi.org/10.32652/spmed.2020.2.3-10 Ukrainian.
28. Fedorchuk S, Kravchenko V, Fibakh K, Lysenko O, Shynkaruk O. Stan neyrodinamichnykh funktsiy i dinamichna m'yazova vytrvyalist' kvalifikovanykh sport-smeniv-vesluyal'nykiv [The state of neurodynamic functions and dynamic muscular endurance of qualified rowers]. Sports medicine, physical therapy and ergotherapy. 2021;1:128-133. https://doi.org/10.32652/spmed.2021.1.128-133 Ukrainian.
29. Khalyavka T, Kolosova O, Fedorchuk S. Efektyvnist' psikhichnoyi samorehulyatsiyi, emotsiynna stiykist' i stres-urazlyvist' sport-smeniv-tenisystiv za metodykoyu voboru kol'oriv u zv'yazku z funktsional'nym stanom nervovom'yazovoho aparatu [Efficiency of mental self-regulation, emotional stability and stress-vulnerability of tennis players according to the method of color selection in connection with the functional state of the neuromuscular system]. Bulletin of the Kyiv National Taras Shevchenko University (series: Problems of regulation of physiological functions). 2017;2(23):51-55. Ukrainian.
30. Shynkaruk O, Lysenko O, Fedorchuk S. Stres ta yoho vplyv na zmahal'nu ta trenuval'nu diyal'nist' sport-smeniv [Stress and its influence on competitive and training activities of athletes]. Physical culture, sport and health of the nation: a collection of scientific papers. Vinnytsia: Planer LLC. 2017;3(22):469-476. Ukrainian.
31. Bastias G, Villarroel L, Zuniga D, et al. Academic performance of medical students: a predictable result? Rev. Med. Chil. 2000;128(6):671-678.
32. Fedorchuk S, Lysenko O, Romanyuk V. Neurodynamic properties and psychological characteristics of high qualification sportsmen with different sports trainings. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Problems of Physiological Functions Regulation. 2018;24(1):27-31. doi: http://dx.doi.org/10.17721/2616_6410.2018.24.27-31 Ukrainian.
33. Fedorchuk S, Tukaiev S, Lysenko O, Shynkaruk O. The psychophysiological state of highly qualified athletes performing in diving with different levels of anxiety. European Psychiatry, Elsevier. 2018;48:681.
34. Fedorchuk S, Lysenko O, Shynkaruk O. Constructive and non-constructive coping strategies and psychophysiological properties of elite athletes. European Psychiatry, Elsevier. 2019;56:306.
35. Fedorchuk S., Petrushevskiy Y. The state of psychophysiological functions in handball players with different experience of sports training. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv – Biology. 2020;81(2):42-45. doi: 10.17721/1728_2748.2020.81.42-45 Ukrainian.
36. Heim E. Coping based intervention strategies. Patient education and counseling. 1995;26(1-3):145-151.
37. Ivaskevych D, Borysova O, Fedorchuk S, Tukaiev S, Kohut I, Marynych V, Petrushevskiy Ye, Ivaskevych O, Mihaila I. Gender differences in competitive anxiety and coping strategies within junior handball national team. Journal of Physical Education and Sport. University of Pitesti, Romania (EUP). 2019;19(2):1242-1246. doi:10.7752/jpes.2019.02180
38. O'Sullivan D, Zuckerman M, Kraft M. Personality characteristics of male and female participants in team sports. Personality and Individual Differences. 1998;25:119-128.
39. Tomczak M, Walczak M, Breczewski G. Selected psychological determinants of sports results in senior fencers. Human movement. 2012;13(2):161–169.
40. Yeung RR. The effect of exercise on mood state. Journal of Psychosomatic Research. 1996;40(2):123-141.

Надійшла до редколегії 16.09.2021
Отримано виправлений варіант 16.10.2021
Підписано до друку 16.10.2021

Received in the editorial 16.09.2021
Received version on 16.10.2021
Signed in the press on 16.10.2021

С. Федорчук, канд. биол. наук
Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, Киев, Украина,
В. Романюк, канд. биол. наук
Ровенский государственный гуманитарный университет, Ровно, Украина

ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СОСТАВЛЯЮЩИЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ КВАЛИФИЦИРОВАННЫХ СПОРТСМЕНОВ (АКАДЕМИЧЕСКАЯ ГРЕБЛЯ)

Исследовалось состояние психофизиологических функций квалифицированных спортсменов, специализирующихся в академической гребле, во взаимосвязи с уровнем стресса, эмоциональной стойкости, эффективности психической саморегуляции и адаптивности. Для определения состояния психофизиологических функций, максимального темпа движения кисти (по теппинг-тесту) применяли диагностический комплекс "Диагност-1" (М. В. Макаренко, В. С. Лизогуб). Для изучения стратегий преодоления стресса (копинг-стратегий) и приоритетного стиля преодоления стрессовых ситуаций был использован опросник "Определение индивидуальных копинг-стратегий" Э. Хейм. Для оценки имеющегося психического состояния спортсменов (а именно уровня существующего стресса), эмоциональной устойчивости, эффективности психической саморегуляции и адаптивности был применен тест выбора цветов М. Люшера. В исследуемой группе выявлено преобладание респондентов с высоким уровнем стрессоустойчивости, высоким и средним уровнем эмоциональной стойкости, средней эффективностью психической саморегуляции и адаптивности. Наиболее распространенными копинг-стратегиями среди обследованных спортсменов были: в когнитивной сфере – сохранение самообладания, в эмоциональной – оптимизм, в поведенческой – отвлечение. В целом у спортсменов количественно преобладали адаптивные стратегии преодоления стресса по сравнению с неадаптивными и относительно адаптивными. Специфическими психофизиологическими маркерами стрессоустойчивости, эффективности психической саморегуляции и адаптивности оказались показатели силы и эффективности сенсомоторной деятельности. Эмоциональная стойкость ассоциировалась с силой и функциональной подвижностью нервных процессов. Выявленные взаимосвязи показателей состояния психофизиологических функций с психологическими характеристиками могут иметь прогностическую ценность и использоваться для усовершенствования в данном виде спорта.

Ключевые слова: спортсмены высокой квалификации, стрессоустойчивость, состояние психофизиологических функций, академическая гребля.

S. Fedorchuk, PhD
National University of Ukraine on Physical Education and Sport, Kyiv, Ukraine,
V. Romaniuk, PhD
Rivne State Humanitarian University, Rivne, Ukraine

PSYCHOPHYSIOLOGICAL COMPONENTS OF STRESS RESISTANCE OF QUALIFIED ATHLETES (ACADEMIC ROWING)

The aim of the study was to determine the state of psychophysiological functions of skilled athletes specializing in academic rowing, in relation to the level of existing stress, emotional stability and the effectiveness of mental self-regulation and adaptability. To determine the state of psychophysiological functions, the maximum rate of movement of the hand (according to the method of tapping test) used diagnostic complex "Diagnostics-1" (MV Makarenko, VS Lyzogub). To study the strategies of coping with stress (coping strategies) and to determine the priority style of coping with stressful situations in athletes, the questionnaire "Identification of individual coping strategies" by E. Heim was used. To assess the current mental state of athletes (namely – the level of existing stress), emotional stability and effectiveness of mental self-regulation and adaptability, the test of color choice M. Luscher was used. In the studied group of athletes revealed the prevalence of respondents with a high level of stress resistance, high and medium level of emotional stability, average efficiency of mental self-regulation and adaptability. The most common coping strategies among the surveyed athletes were: in the cognitive sphere – "preservation of self-control", in the emotional – "optimism", in the behavioral – "distraction". In general, the use of adaptive stress management strategies outnumbered non-adaptive and relatively adaptive strategies among athletes. Specific psychophysiological markers of stress resistance, efficiency of mental self-regulation and adaptability of the examined athletes were indicators of strength and efficiency of sensorimotor activity. Emotional stability of the surveyed athletes was associated with the strength and functional mobility of nervous processes. The identified relationships between indicators of psychophysiological functions and psychological characteristics of athletes can have prognostic value and be used to optimize sports improvement in this sport.

Keywords: highly qualified athletes, stress resistance, state of psychophysiological functions, academic rowing.

LEVEL OF MIDDLE MOLECULAR PEPTIDES IN THE ARTICULAR CARTILAGE OF RATS UNDER EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS AND ADMINISTRATION OF PROBIOTIC COMPOSITION

The question regarding clarification the mechanisms that link changes in the musculoskeletal system with changes in the microbiome, in recent few years has become particularly relevant. The investigation of the biological effect of probiotics on cartilage metabolism under osteoarthritis (OA) opens the perspectives for their use in complex therapy and prevention of joint pathology. The aim of the research was to analyze the quantitative and qualitative composition of the peptide component of the middle-mass molecules (MMM) of different fractions in the articular cartilage of rats with experimental OA under the introduction of multiprobiotic (PB) composition. The experiments were conducted on white male non-linear rats weighing 180-200 g. Experimental osteoarthritis in rats was induced by a single injection of sodium monoiodacetate (MIA; Sigma, USA) in the knee patellar ligament. The animals of therapeutic group received oral administration of live probiotic composition Multiprobiotic Simbiter® acidophilic concentrated ("O.D. Prolisok", Ukraine) at a dose of 140 mg/kg daily for 14 days. Euthanasia of animals was performed on the 30th day of the experiment. The level of MMM was assessed spectrophotometrically. Fractionation at the peptide level was performed using the method of chromatography, which is separated by size on Sephadex G 15 column. Our findings showed an increase in the MMM content of all studied fractions in cartilage tissue of rats with experimental OA and changes in the qualitative and quantitative composition of their the peptide component, that could indicate the development of endogenous intoxication, as a result of impaired cartilage metabolism, inflammation and destructive processes in the knee joint during the pathology. Administration to animals with MIA-induced OA PB composition had a favorable effect on the studied parameters, which was expressed in a decrease of MMM content and restored redistribution of the peptide pool of cartilage tissue. The obtained results provide grounds for further research aimed at studying the biological effect of PB on cartilage metabolism, which may contribute to the development of new strategies for the treatment and prevention of joint diseases.

Keywords: Osteoarthritis, middle-mass molecules, endogenous intoxication, peptide component, probiotic composition.

Introduction. Osteoarthritis (OA) is the most common disease among musculoskeletal pathologies, mainly among middle-aged and elderly people, and occupies a leading place among the global causes of disability [1]. More than 20 % of the world's population suffers from OA, while clinical symptoms of this pathology are recorded in about 18 % of women and 9.6 % of men over the age of 60 years [2]. The development of joint disease quite often occurs in combination with other pathologies of the musculoskeletal and cardiovascular system, diabetes mellitus, hypothalamic syndrome, pulmonary pathology, metabolic syndrome, obesity, etc., which can affect the course of OA [3-5]. Recently, the OA is considered as a whole organ disease in which all components of the joint are involved in the pathological process: cartilage, subchondral bone, synovial membrane, ligaments, capsules and periarticular muscles. The progression of OA is directly related to metabolic disorders, the formation of proteoglycan deficiency and uncontrolled inflammatory processes, resulting in chronic pain syndrome and endogenous intoxication [6, 7].

Endogenous intoxication (EI), which is associated with the accumulation in tissues and biological fluids of the organism of excess metabolites of normal and pathological metabolism, waste products of different pathogenic microorganisms is observed in various, etiologically and pathogenetically dissimilar conditions [8]. Under conditions of chronic endogenous intoxication, articular cartilage becomes a target for endogenous toxic compounds and the systemic effects mediated by them, in particular, mediators of the cytokine cascade, which results in disruption of the process of physiological regeneration and remodeling of cartilage tissue.

One of the most sensitive signs of EI is an increase in the level of so-called middle molecules (MMs, middle-mass molecules (MMM), middle molecular weight molecules (MMWM)), which mostly represented by peptides with a molecular weight of 300-5000 Da. MMs is a heterogeneous group of substances, the accumulation of which in the organism occurs in violation of the functional ability of detoxification systems and increased catabolism of proteins,

nucleoproteins, some humoral regulators, which contributes to the defeat of toxic metabolites of the relevant organs and strengthening the course of the pathological process. Most of the MMs pool is formed by peptides, glycopeptides, endorphins, amino sugars, polyamines, insulin, glucagon, adrenocorticotrophic hormone, vasopressin, oxytocin, angiotensin, lipofuscin, atherogenic lipoproteins, nucleotides, products of fibrinogen, albumin, thrombin degradation, collagen fragments, and derivatives of glucuronic acid, lipids, phospholipids, etc. The peculiarity of MMs is their high biological activity and tissue specificity. According to the research [9], identified a group of middle molecular weight peptides – fragments of collagen, which accelerate damage to the extracellular matrix and upregulate of matrix metalloproteinases (MMPs), which contribute to the destruction of cartilage during OA or may be processes in normal metabolic feedback [10, 11]. Today is widely studied the issue of using changes in the composition of the peptide pool of the organism to predict the course of diseases, in particular the cardiovascular system, liver and kidneys, metabolic syndrome, cancer and others [12, 13]. However, the pathogenetic role of MMs under the OA has not been sufficiently studied.

Meanwhile, the intensity and severity of endogenous intoxication depends not only on pathological processes that are accompanied by resistance of the organism, but also on the state of microbiocenoses. Since dysbiosis of the digestive system is observed in the development of many diseases of the organism, including pathologies of the musculoskeletal system [14, 15], so the question of maintaining a full-fledged microbiome today is given more and more attention. The authors of modern scientific research indicate that the state of the intestinal microbiome is an important pathogenic factor in the violation of bone homeostasis, and predict its role in the progression of OA [16, 17]. To restore and maintain the normobiosis of the gastrointestinal tract, are used the probiotics – drugs, based on living microorganisms and substances of microbial origin, which are producers of physiologically active metabolites

(vitamins, short-chain fatty acids, antioxidants and immunomodulators), which can reduce the development of inflammatory processes, detect antioxidant and detoxifying properties and cause positive effects on all systems of the organism [18]. Today it is extremely important to find and evaluate the effectiveness of new methods and means of prevention and treatment of OA, which will have a complex effect on articular tissues, have anti-inflammatory properties, especially in the early stages of the disease, reduce subchondral bone rigidity, improve joint lubrication, prevent the progression of cartilage degeneration and will contribute to the restoration (improvement) of joint function with minimal side effects.

Therefore, the aim of the study was to determine the level of middle molecules of different fractions and investigate the quantitative and qualitative composition of their peptide component in the articular cartilage of rats with experimental osteoarthritis under the administration of multiprobiotic (PB) composition.

Materials and methods. The experiments were conducted on white male non-linear rats weighing 180-200 g, which were bred in the vivarium of Taras Shevchenko National University of Kyiv. The researches were performed according to the general rules and international bioethical principles of the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, France, 1986), the General ethical principles, approved by the First National Congress of Ukraine on Bioethics (September, 2001), and other international agreements and national legislation in this field.

The all experimental animals were divided into three groups of 10 animals each. The rats of the Control group got injection of saline on the first day of experiment and oral administration of 1 ml drinking water daily from the 8th to the 21st day. In the animals of the second group (MIA-OA) modeled experimental osteoarthritis, which induced by single injection of 0.05 ml of sterile saline solution containing 1 mg sodium monoiodacetate (MIA; Sigma, USA) in the patellar ligament of left hind knee at the 1st day of the experiment [19]. The animals of third therapeutic group (MIA-OA+PB) got injection of MIA on the 1st day and received oral administration of live probiotic composition Simbiter® acidophilic concentrated (O.D. Prolisok, Ukraine) at a dose of 140 mg/kg dissolved in the 1 ml drinking water per 1 kg of the animal weight daily from the 8th to the 21st days of the experiment. Probiotic complex included live symbiotic biomass that contains 17 strains of microorganisms, belonging to the 10 genera: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* and *Acetobacter*. Multiprobiotic contains at least 10¹² live cells of probiotic bacteria in one dose (10 ml).

Euthanasia of animals was performed for 30 day after the start of the experiment by decapitation according to the protocol of the ethics committee, after which the cartilage of the knee joints was taken in the cold for further research.

The level of middle-mass molecules was assessed spectrophotometrically according to the method of Nikolaychuk [20]. All manipulations were performed at a temperature of 4°C. To precipitate the bulk of proteins was added to the samples an equal volume of 1.2 M HClO₄, followed by cen-

trifugation for 20 min at 5000 g. The supernatant was neutralized by 5 N KOH to pH 7.0 and the samples were centrifuged again under the same conditions. After 60 % ethanol was added to the obtained supernatant in a ratio of 1:5, then the samples were incubated for 15 min and centrifuged at 2500 g. The optical density of the supernatants was measured with a spectrophotometer Smart SpecTMPlus (BioRad, USA) at a wavelength (λ) of 210 nm (the value of optical absorption is due to the presence of a peptide bond, MMM₁), 238 nm (absorption of aminopeptide fraction, MMM₂) and 254 nm (absorption of peptide fraction, which does not contain aromatic amino acids, MMM₃).

Fractionation at the peptide level was performed size exclusion chromatography via a column of Sephadex G 15 (Bio Rad, USA) [21]. The received samples of MMM were lyophilized (Testar Lyo Quest, Spain), then dissolved in 1 ml of 0.05M Tris-HCl buffer, pH 7.4, containing 0.13M NaCl. The chromatographic process rate was 18 ml/h. The column was pre-calibrated under similar conditions using standard markers solution such as lysozyme (14.3 kDa), insulin (5.7 kDa) and vitamin B12 (1.35 kDa).

Statistical analyses was performed using computer program OriginLab (v9.1). The research results were presented as average arithmetic \pm standard deviation (dispersion) ($M \pm SD$). The difference between of experimental groups was considered to be statistically significant at $p < 0.05$.

Results and discussion. Articular cartilage is specialized connective tissue which unlike most tissues, does not have blood or lymphatic vessels and nerves. It is composed of a dense extracellular matrix (ECM), the main components of which are macromolecules of collagen (mainly type II) and proteoglycans (PG), including aggrecan, decorin, biglycan, and fibromodulin, with other noncollagenous proteins and glycoproteins present in lesser amounts which essential for normal function. Chondrocytes are the primary regulators of matrix anabolism and catabolism in articular cartilage. When this balance is disturbed and various biochemical pathways are activated, resulting in degradation of the extracellular matrix, inflammation occurs, and chondrocytes undergo dedifferentiation and hypertrophy, ultimately leading to OA [22]. Intoxication syndrome caused by the release of proteolytic enzymes stimulates increased tissue breakdown, increased catabolic processes due to the accumulation of excess amount of biologically active substances, deformed protein metabolites and other toxic substances of endogenous origin. In the tissues of the joint of patients with OA accumulate protein substances of different molecular weight, which are involved in the destruction of cartilage, tendons and ligaments [23, 24].

Our biochemical studies indicate the intensification of EI processes and pathological disturbance of articular cartilage homeostasis under the development of MIA-induced OA, as indicated by an increase in the level of MMM of different fractions in the cartilage tissue of the rat joint, compared to the Control (Fig. 1). Thus, in the group of animals in which was modeled of the experimental OA, the content of MMM₁, MMM₂ and MMM₃ increased by 3.9, 2.9 and 1.6 times respectively, compared to the values of control animals.

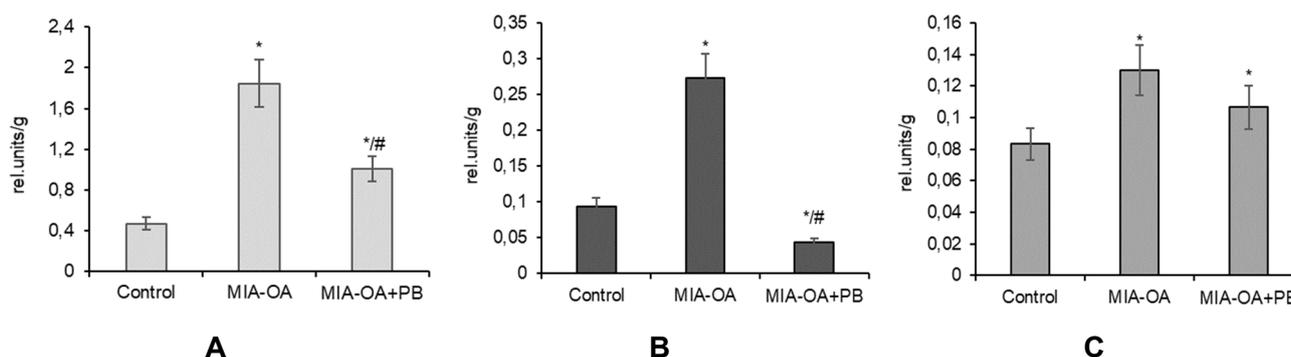


Fig. 1. The levels of middle-mass molecules MMM₁ (A), MMM₂ (B), MMM₃ (C) in articular cartilage of rats with experimental osteoarthritis (MIA-OA) under the administration of probiotic (PB) composition, relative (rel.) units/g (M±SD, n=10 in each group)

Notes: *p<0.05 – statistically significant difference relative to Control group; #p<0.05 – statistically significant difference relative to MIA-OA group.

It is worth noting that the breakdown of protein molecules, as a result of which MMM are formed, occurs under the action of proteinases. In studies [25] showed their prevalence, in particular at a wavelength of 254 nm, which testified to destructive-necrotic changes due to the elevation of the nucleoprotein component. Cartilage destruction is accompanied by increased levels of proteases such as adamalysin, disintegrin and MMP with thrombospondin type 1 (ADAMTSs). Among MMPs, the main factor in the destruction of collagen type 2 is MMP-13, other collagenases (MMP-1, MMP-8, MMP-2 and MMP-9) provide further cleavage of denatured collagen fibrils; MMP-3, ADAMTSs-4 and ADAMTSs-5 (aggrecanase) destroy the aggrecan [26]. The intensity of disintegration of biopolymers and the rate of their excretion through the detoxification organs, determines the level of MMM, respectively, the degree of EI, the duration and activity of the pathological process in the organism.

Endogenous intoxication and an increase in the content of MMM for OA is led by activation of free radical oxidation processes both at the local and systemic levels. As a result of the action of pro-inflammatory cytokines and activation of signaling cascades in cells are formed excess of reactive oxygen species (ROS), which results in increased lipid peroxidation (LPO), oxidative modification of proteins (OMP), destruction of nucleic acids, carbohydrates, etc [27]. Previous studies [28] showed that in the serum and cartilage tissue of rats with experimental joint pathology the content of superoxide radical and hydrogen peroxide, lipid peroxidation products and proteins increased, and the functioning of the antioxidant system was impaired.

Administration of the PB composition to rats with MIA-induced OA was accompanied by a decrease in the intensity of endotoxemia, as indicated by the following values of MMM content: the content of MMM₁ decreased by 1.8 times compared to animals of the MIA-OA group, but remained higher relative to Control by 2.1 times; the content of MMM₂ decreased by 6.3 times compared to animals of the MIA-OA group, and by 2.2 times – in relation

to the control values; whereas the values of the content of MMM₃ did not differ significantly from the indicators of the MIA-OA group, although they tended to decrease (Fig. 1). Middle-molecular peptide component, which are determined at a wavelength of 254 nm are toxic fraction and is an integral indicator of the content of ultraviolet absorbing substances, which, in addition to proteolysis products, include non-protein substances of normal and abnormal metabolism, change less significantly [29]. It is known that probiotics are able to reduce the permeability of tissue barriers to toxins, to provide detoxification of compounds formed in the organism as a result of pathogens. Multiprobitotics through the significant content of enzymes metabolize proteins, fats, carbohydrates, nucleic acids, as well as break down certain food and bacterial allergens [18]. Due to the wide range of biological activity, they promote to the production of mediators which have a positive effect not only on the functions of the gastrointestinal tract, but also on metabolic processes in the organism. The introduction of PB in animals with experimental joints pathology restored the disturbed oxidative-antioxidant balance both in the joint (locally) and at the systemic level (in the blood), reduced the intensity of inflammation in the organism, prevented the activation of proteolytic enzymes and the catabolism of collagen proteins, suppressed destructive processes in the tissues of the joint [28, 30].

The study of the qualitative composition of the protein component of the MMM cartilage of rats with experimental OA and the introduction of a PB composition was carried out using the chromatography method, dividing by size on a column with Sephadex G 15. The obtained results are showed in Fig. 2.

The presented chromatograms are typical for each study group, the difference is only in the number and parameters of chromatographic peaks. For quantitative characteristics of the obtained chromatograms, using markers of molecular weight, their calculations were performed. The data are presented in Table. 1.

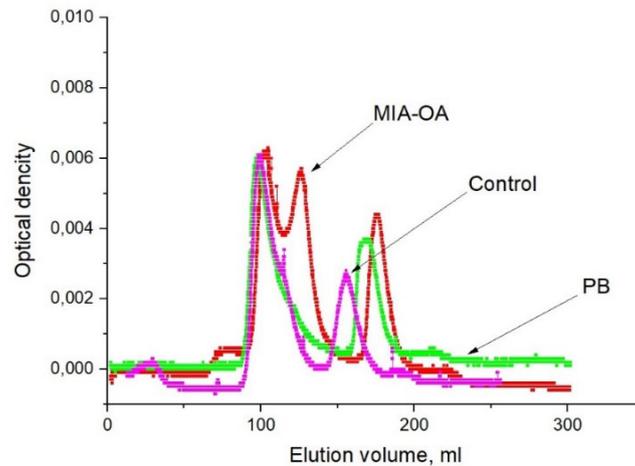


Fig. 2. The typical chromatograms showing the separation of the protein component of MMM articular cartilage of rats with MIA-induced osteoarthritis (MIA-OA) under administration of probiotic (PB) composition

Table 1. Characteristics of the qualitative composition of middle-mass molecules in homogenate of knee cartilage of rats with experimental osteoarthritis (MIA-OA) under administration of probiotic (PB) composition

Investigated group	Peak number	Total area under peak (rel. units)	Molecular weight (Da)	Area under peak (rel. units)
Control	1	0,190	1602,0	0,047
	2		955,8	0,041
	3		1392,4	0,102
MIA-OA	1	0,264	1525,9	0,084
	2		1269,4	0,116
	3		893,4	0,051
	4		1989,0	0,013
PB	1	0,161	1605,3	0,052
	2		929,8	0,046
	3		1422,1	0,063

The changes in the number of peaks and molecular weights of individual peptide fractions in the total pool of peptide component, which was applied to the chromatographic column, are shown. It was established an increase in the number of peaks and an increase in the variation of molecular masses in the cartilage tissue of rats with MIA-OA. According to the obtained results of chromatographic separation of the peptide component, in the articular cartilage of animals of the Control group was determined the presence of 3 fractions of peptides with a molecular weight of 1602.0, 1392.4 and 955.8 Da, the dominant quantitative ratio were peptides with a molecular weight of 1392.4 Da, the share of which in the total pool was about 54 %.

The peptide component obtained from the cartilage of rats with MIA-induced OA was divided into 4 fractions, the molecular weight of which was in range from 893.4 to 1989 Da. At the same time there was an increase in the total area of peaks in 1.4 times, compared to the animals of the control group, the dominance of peptides with a molecular weight of 1269.4 Da, the share of which in the total pool was about 44 %, the smallest share – about 5 %, were peptides with molecular weight 1989 Da.

In progressive diseases of the joint, the degradation of extracellular matrix proteins and proteoglycans leads to irreversible changes in the properties of the collagen network. In addition, the disbalance in the metabolism of matrix proteins often leads to enhanced proteolysis of molecules bound to and exposed on the surface of collagen fibers, such as fibromodulin, decorin and cartilaginous oligomeric matrix protein (COMP) [31].

The molecular weights of peptides accumulated in the cartilage tissue of animals with experimental OA, which received the PB composition were generally in the range of masses close to the values of the animals in the Control group and amounted to 1605.3, 1422.1 and 929.8 Da, with almost the same quantitative ratio in general pool of peptide component. Such obtained indicators may be related to the fact that the PB has anti-inflammatory, antioxidant and regenerative effects by both normalization of the intestinal microbiota and activation of anabolic processes in cartilage tissue under the conditions of osteoarthritis [32]. Consequently, showed a violation of the functioning of the proteolysis system, intensification of the degradation of protein molecules and their fragments, intensification of EI processes in the tissues of the rat joint under MIA-induced OA. The administration of PB composition to animals with experimental pathology had a favorable effect, which was manifested in the restored redistribution of the peptide pool of articular cartilage tissue. Determination of specific peptides in the tissues of the organism, including the musculoskeletal system, as well as qualitative and quantitative characteristics of individual peptide fractions, can be used as an indicator of the development of a pathological state, serve as a predicting marker of the course of the disease or the effectiveness of its therapy.

Conclusions. In the course of the conducted researches was analyzed the quantitative and qualitative composition of the protein component of the middle-mass molecules of different fractions in the cartilage tissue of rats with experimental OA under administration of a probiotic composition. The content of MMM₁, MMM₂ and MMM₃ was reliably increased in the cartilage tissue of rats with MIA-

induced OA, which could indicate endogenous intoxication, which may be result of impaired cartilage metabolism, inflammation and destructive processes in the knee joint during the development of pathology. Shown changes in the number of peaks and molecular weights of peptides in animal cartilage with experimental OA. The administration to animals with MIA-OA PB composition had a beneficial effect on the studied parameters, which was expressed in a decrease the content of MMM and restored redistribution of the peptide pool in cartilage tissue, which may be associated with a wide range of biological activity of this drug. Established changes in the qualitative and quantitative composition of peptide component of cartilage tissue of rats with experimental OA upon the administration of probiotic composition can become the basis for further experiments aimed at identifying individual molecules as biomarkers of development and course of pathological process in the joints and expand scientific data on the biological action of probiotic on the organism under OA.

References

- Hunter D.J. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a Lancet Commission / D.J. Hunter, L. March, M. Chew // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396(10264). – P.1711-1712.
- Fekete H. Evaluation of osteoarthritis knee and hip quality of life (OAKHQoL): adaptation and validation of the questionnaire in the Hungarian population / H. Fekete, F. Guillemin, E. Pallagi [et al.] // *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*. – 2020. – Vol. 12. – P.1759720X20959570. doi: 10.1177/1759720X20959570.
- Hall A.J. Association between osteoarthritis and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis / A.J. Hall, B. Stubbs, M.A. Mamas, P.K. Myint, T.O. Smith // *European Journal of Preventive Cardiology*. – 2016. – Vol. 23, №9. – P.938-946.
- Zheng L. The role of metabolism in chondrocyte dysfunction and the progression of osteoarthritis / L. Zheng, Z. Zhang, P. Sheng, A. Mobasheri // *Ageing Research Reviews*. – 2021. – Vol. 66. – P.101249. doi: 10.1016/j.arr.2020.101249.
- Tchetina E.V. Insulin resistance in osteoarthritis: similar mechanisms to type 2 diabetes mellitus / E.V. Tchetina, G.A. Markova, E.P. Sharapova // *Journal of Nutrition and Metabolism*. – 2020. – Vol. 2020. – P.4143802. doi: 10.1155/2020/4143802.
- Aspden M. Osteoarthritis as an organ disease: from the cradle to the grave / M. Aspden, F.R. Saunders // *European Cells & Materials Journal*. – 2019. – Vol. 37. – P.74-87.
- Findlay D.M. Bone-cartilage crosstalk: a conversation for understanding osteoarthritis / D.M. Findlay, J.S. Kuliwaba // *Bone Research*. – 2016. – Vol. 4. – P.16028.
- Sadikov R.A. Modern views and approaches to pathophysiological bases of endogenous intoxication / R.A. Sadikov, D.M. Khakimov, N.A. Kasimov // *The Central Asian Journal of Medical Sciences*. – 2021. – Vol. 2, №2. – P.140-148.
- Schadow S. Collagen metabolism of human osteoarthritic articular cartilage as modulated by bovine collagen hydrolysates / S. Schadow, H.-C. Siebert, G. Lochnit, J. Kordelle, M. Rickert, J. Steinmeyer // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, №1. – P.e53955. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053955>.
- Schadow S. Metabolic response of human osteoarthritic cartilage to biochemically characterized collagen hydrolysates / S. Schadow, V.S. Simons, G. Lochnit [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18, №1. – P.207. doi: 10.3390/ijms18010207.
- Kumavat R. Biomarkers of joint damage in osteoarthritis: current status and future directions / R. Kumavat, V. Kumar, R. Malhotra [et al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2021. – Vol. 2021. – P.5574582. <https://doi.org/10.1155/2021/5574582>.
- Lygiro V. Plasma proteomic analysis reveals altered protein abundances in cardiovascular disease / V. Lygiro, A. Latosinska, M. Makridakis [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2018. – Vol. 16. – P.104. doi:10.1186/s12967-018-1476-9.
- Dersh D. A few good peptides: MHC class I-based cancer immunosurveillance and immunoevasion / D. Dersh, J. Holly, J.W. Yewdell // *Nature Reviews Immunology*. – 2021. – Vol. 21. – P.116-128.
- Li R. The gut microbiome: a new frontier in musculoskeletal research / R. Li, C.G. Boer, L. Oei [et al.] // *Current Osteoporosis Reports*. – 2021. – P.19:347-357.
- Gizard F. Interactions between gut microbiota and skeletal muscle / F. Gizard, A. Fernandez, F. De Vadder // *Nutrition and Metabolic Insights*. – 2020. – Vol. 13. – P.1178638820980490. doi: 10.1177/1178638820980490.
- Favazza L.J. The gut microbiome-joint connection: implications in osteoarthritis / L.J. Favazza, H. Hendsia, D.A. Villania // *Current Opinion in Rheumatology*. – 2020. – Vol. 32, №1. – P.92-101.
- Sánchez Romero E.A. Relationship between the gut microbiome and osteoarthritis pain: review of the literature / E.A. Sánchez Romero, E.M. Oliva, J.L.A. Pérez [et al.] // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 3, №3. – P.716.
- Xu H. The dynamic interplay between the gut microbiota and autoimmune diseases / H. Xu, M. Liu, J. Cao [et al.] // *Journal of Immunology Research*. – 2019. – Vol. 27. – P.7546047.
- Baragi V.M. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models / V.M. Baragi, G. Becher, A.M. Bendele [et al.] // *Arthritis & Rheumatology*. – 2009. – Vol. 60, №7. – P.2008-2018.
- Nykolaychuk B.B. Method for determining of the peptide pool molecular / B.B. Nykolaychuk, V.M. Moyn, V.V. Kyrkovskyy // *Laboratory case*. – 1991. – Vol. 10. – P.13-18. [in Russian].
- Paula H. Size-exclusion chromatography for the analysis of protein biotherapeutics and their aggregates / H. Paula, K. Stephan, E. Edouard // *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. – 2012. – Vol. 35. – P.2923-2950.
- Meo Burt P. FGF23 Regulates Wnt/ β -catenin signaling-mediated osteoarthritis in mice over-expressing high-molecular-weight FGF2 / P. Meo Burt, L. Xiao, M.M. Hurley // *Endocrinology*. – 2018. – Vol. 159, №6. – P.2386-2396.
- Dickinson S.C. Cleavage of cartilage oligomeric matrix protein (thrombospondin-5) by matrix metalloproteinases and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs / S.C. Dickinson, M.N. Vankemmelbeke, D.J. Buttle, K. Rosenberg, D. Heinegard, A.P. Hollander // *Matrix Biology*. – 2013. – Vol. 22, №3. – P.267-278.
- Sheridan C. Low-molecular-weight albumin drug touted for severe osteoarthritis / C. Sheridan // *Nature Biotechnology*. – 2018. – Vol. 36, №4. – P.293. doi: 10.1038/nbt0418-293.
- Cherkasova V.V. Role of endogenous intoxication in acute experimental pancreatitis / V.V. Cherkasova // *Art of Medicine*. – 2018. – Vol. 2, №1. – P.34-37.
- Duan L. Recent progress on the role of miR-140 in cartilage matrix remodelling and its implications for osteoarthritis treatment / L. Duan, Y. Liang, X. Xu [et al.] // *Arthritis Research and Therapy*. – 2020. – Vol. 22. – P.194. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-02290-0>.
- Korotkyi O. Lipid peroxidation in rat cartilage under experimental osteoarthritis and administration of multiprobiotic / O. Korotkyi, L. Kot, K. Dvorshchenko. *Visnyk Taras Shevchenko National University Of Kyiv. Biology*. – 2020. – Vol. 80, №1. – P.41-44. [Ukrainian].
- Korotkyi O. Oxidative/antioxidant balance and matrix metalloproteinases level in the knee cartilage of rats under experimental osteoarthritis and probiotic administration / O. Korotkyi, K. Dvorshchenko, L. Kot, T. Vovk, M. Tymoshenko, L. Ostapchenko // *The Ukrainian Biochemical Journal*. – 2020. – Vol. 92, №6. – P.26-136.
- Kuzminova E. The spectrum of molecules of medium mass as endogenous intoxication indicator in quails with mycotoxicosis / E. Kuzminova, E. Dolgov, M. Semenenko, D. Osepchuk, K. Semenenko // *E3S Web of Conferences*. – 2020. – Vol. 210. – P.06010. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202021006010>.
- Korotkyi O. Effect of probiotic composition on oxidative/antioxidant balance in blood of rats under experimental osteoarthritis / O. Korotkyi, K. Dvorshchenko, A. Vovk, A. Dranitsina, M. Tymoshenko, L. Kot, L. Ostapchenko // *The Ukrainian Biochemical Journal*. – 2019. – Vol. 91, №6. – P.49-58.
- Ahrman E. Novel cartilage oligomeric matrix protein (COMP) neoepitopes identified in synovial fluids from patients with joint diseases using affinity chromatography and mass spectrometry. E. Ahrman, P. Loreno, K. Holmgren [et al.] // *JBC Papers in Press*. – 2014. doi: 10.1074/jbc.M114.554683.
- Cristofori F. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of probiotics in gut inflammation: a door to the body / F. Cristofori, V.N. Dargenio, C. Dargenio, V.L. Miniello, M. Barone, R. Francavilla // *Frontiers in Immunology*. – 2021. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.578386>.

References (Scopus)

- Hunter DJ, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a Lancet Commission. *Lancet*. 2020;396(10264):1711-1712. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32230-3.
- Fekete H, Guillemin F, Pallagi E, Fekete R, Lippai Z, et al. Evaluation of osteoarthritis knee and hip quality of life (OAKHQoL): adaptation and validation of the questionnaire in the Hungarian population. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2020;12:1759720X20959570. doi: 10.1177/1759720X20959570.
- Hall AJ, Stubbs B, Mamas MA, Myint PK, Smith TO. Association between osteoarthritis and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*. 2016;23(9):938-946.
- Zheng L, Zhang Z, Sheng P, Mobasheri A. The role of metabolism in chondrocyte dysfunction and the progression of osteoarthritis. *Ageing Res Rev*. 2021;66:101249. doi: 10.1016/j.arr.2020.101249.
- Tchetina EV, Markova GA, Sharapova EP. Insulin resistance in osteoarthritis: similar mechanisms to type 2 diabetes mellitus. *J Nutr Metab*. 2020;2020:4143802. doi: 10.1155/2020/4143802.

6. Aspden M, Saunders FR. Osteoarthritis as an organ disease: from the cradle to the grave. *Eur Cell Mater.* 2019;37:74-87.
7. Findlay DM, Kuliwaba JS. Bone-cartilage crosstalk: a conversation for understanding osteoarthritis. *Bone Res.* 2016;4:16028.
8. Sadikov RA, Khakimov DM, Kasimov NA. Modern views and approaches to pathophysiological bases of endogenous intoxication. *Central Asian J Med Nat Sci.* 2021;2(2):P:140-148.
9. Schadow S, Siebert H-C, Lochnit G, Kordelle J, Rickert M, Steinmeyer J. Collagen metabolism of human osteoarthritic articular cartilage as modulated by bovine collagen hydrolysates. *PLoS One.* 2013;8(1):e53955. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053955>.
10. Schadow S, Simons VS, Lochnit G, Kordelle J, GazovaZ, et al. Metabolic response of human osteoarthritic cartilage to biochemically characterized collagen hydrolysates. *Int J Mol Sci.* 2017;18(1):207. doi: 10.3390/ijms18010207.
11. Kumavat R, Kumar V, Malhotra R, Pandit H, Jones E, Ponchel F, Biswas S. Biomarkers of joint damage in osteoarthritis: current status and future directions. *Mediators of Inflammation.* 2021;2021:5574582. <https://doi.org/10.1155/2021/5574582>.
12. Lygirou V, Latosinska A, Makridakis M, et al. Plasma proteomic analysis reveals altered protein abundances in cardiovascular disease. *J Transl Med.* 2018;16:104. doi:10.1186/s12967-018-1476-9.
13. Dersh D, Holly J, Yewdell J.W. A few good peptides: MHC class I-based cancer immunosurveillance and immunoevasion. *Nat Rev Immunol.* 2021;21:116-128.
14. Li R, Boer CG, Oei L, et al. The gut microbiome: a new frontier in musculoskeletal research. *Curr Osteoporos Rep.* 2021;19:347-357.
15. Gizard F, Fernandez A, De Vadder F. Interactions between gut microbiota and skeletal muscle. *Nutr Metab Insights.* 2020;13:1178638820980490. doi: 10.1177/1178638820980490.
16. Favazzo LA, Hendsia H, Villania DA. The gut microbiome-joint connection: implications in osteoarthritis. *Cur Opin Rheumatol.* 2020;32(1):92-101.
17. Sánchez Romero EA, Oliva EM, Pérez JLA, Pérez SM, Turroni S, Marchese L, Villafañe JH. Relationship between the gut microbiome and osteoarthritis pain: review of the literature. *Nutrients.* 2021;13(3):716.
18. Xu H, Liu M, Cao J, Li X, Fan D, Xia Y, Lu X, Li J, Ju D, Zhao H. The dynamic interplay between the gut microbiota and autoimmune diseases. *J Immunol Res.* 2019;27:2019:7546047.
19. Baragi VM, Becher G, Bendele AM, Biesinger R, Bluhm H, et al. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models. *Arthritis Rheum.* 2009;60(7):2008-2018.
20. Nykolaychuk BB, Moyn VM, Kyrkovskyy VV. Method for determining of the peptide pool molecular. *Laboratory case.* 1991;10:13-18. [in Russian].
21. Paula H, Stephan K, Edouard E. Size-exclusion chromatography for the analysis of protein biotherapeutics and their aggregates. *J Liquid Chromatography and Related Technologies.* 2012;35:2923-2950.
22. Meo Burt P, Xiao L, Hurley MM. FGF23 Regulates Wnt/ β -catenin signaling-mediated osteoarthritis in mice over-expressing high-molecular-weight FGF2. *Endocrinology.* 2018;159(6):2386-2396.
23. Dickinson SC, Vankemmelbeke MN, Buttle DJ, Rosenberg K, Heinegard D, Hollander AP. Cleavage of cartilage oligomeric matrix protein (thrombospondin-5) by matrix metalloproteinases and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs. *Matrix Biol.* 2013;22(3):267-278.
24. Sheridan C. Low-molecular-weight albumin drug touted for severe osteoarthritis. *Nat. Biotechnol.* 2018;36(4):293. doi: 10.1038/nbt0418-293.
25. Cherkasova VV. Role of endogenous intoxication in acute experimental pancreatitis. *Art of Medicine.* 2018;2(1):34-37.
26. Duan L, Liang Y, Xu X, et al. Recent progress on the role of miR-140 in cartilage matrix remodelling and its implications for osteoarthritis treatment. *Arthritis Res Ther.* 2020;22:194. <https://doi.org/10.1186/s13075-020-02290-0>.
27. Korotkyi O, Kot L, Dvorshchenko K. Lipid peroxidation in rat cartilage under experimental osteoarthritis and administration of multiprobiotic. *Visnyk Taras Shevchenko National University Of Kyiv. Biology.* 2020;80(1):41-44. [Ukrainian].
28. Korotkyi O, Dvorshchenko K, Kot L, Vovk T, Tymoshenko M, Ostapchenko L. Oxidative/antioxidant balance and matrix metalloproteinases level in the knee cartilage of rats under experimental osteoarthritis and probiotic administration. *Ukr Biochem J.* 2020;92(6):126-136.
29. Kuzminova E, Dolgov E, Semenenko M, Osepchuk D, Semenenko K. The spectrum of molecules of medium mass as endogenous intoxication indicator in quails with mycotoxicosis. *E3S Web of Conferences* 2020;210:06010. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202021006010>.
30. Korotkyi O, Dvorshchenko K, Vovk A, Dranitsina A, Tymoshenko M, Kot L, Ostapchenko L. Effect of probiotic composition on oxidative/antioxidant balance in blood of rats under experimental osteoarthritis. *Ukr Biochem J.* 2019;91(6):49-58.
31. Åhrman E, Lorenzo P, Holmgren K, Grodzinsky AJ, Dahlberg LE, Heinegård TSD, Önerfjord P. Novel cartilage oligomeric matrix protein (COMP) neoepitopes identified in synovial fluids from patients with joint diseases using affinity chromatography and mass spectrometry. *JBC Papers in Press.* 2014. doi 10.1074/jbc.M114.554683.
32. Cristofori F, Dargenio VN, Dargenio C, Miniello VL, Barone M, Francavilla R. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of probiotics in gut inflammation: a door to the body. *Front. Immunol.* 2021. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.578386>.

Надійшла до редколегії 20.09.2021
Отримано виправлений варіант 21.10.2021
Підписано до друку 21.10.2021

Received in the editorial 20.09.2021
Received version on 21.10.2021
Signed in the press on 21.10.2021

О. Савчук, д-р біол. наук,
О. Короткий, д-р біол. наук,
Л. Кот, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

РІВЕНЬ СЕРЕДЬНОМОЛЕКУЛЯРНИХ ПЕПТИДІВ У ХРЯЦОВІЙ ТКАНИНІ СУГЛОБА ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРИТУ ПРИ ВВЕДЕННІ ПРОБІОТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ

Питання щодо з'ясування механізмів, які пов'язують зміни в кістково-м'язовій системі зі змінами в мікробіомі, за останні кілька років набуває особливої актуальності. Вивчення біологічної дії пробіотиків на хрящовий метаболізм за розвитку остеоартриту (ОА) відкриває перспективи їх використання у комплексній терапії та профілактиці патології суглобів. Метою роботи було проаналізувати кількісний і якісний склад пептидної складової молекул середньої маси (МСМ) різних фракцій у хрящовій тканині колінного суглоба щурів з експериментальним ОА за введення мультипробіотичної (ПБ) композиції. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г. Модель експериментального ОА у щурів створювали шляхом одноразового введення в інфрапателлярний лігамент колінного суглоба моноіодацетату натрію (МІА; Sigma, США). Тварини терапевтичної групи щоденно протягом 14 днів перорально у дозі 140 мг/кг отримували живу пробіотичну композицію "Мультипробіотик Симбітер® ацидофільний концентрований" ("О. Д. Пролісок", Україна). Евтаназію тварин проводили на 30-ту добу експерименту. Рівень МСМ оцінювали спектрофотометрично. Фракціонування на пептидному рівні здійснювали методом хроматографії, що поділяє за розмірами, на колонці із Sephadex G 15. Показано збільшення вмісту МСМ усіх досліджуваних фракцій у хрящовій тканині щурів із експериментальним ОА та встановлено зміни якісного і кількісного складу їхньої пептидної складової, що могло свідчити про розвиток ендогенної інтоксикації унаслідок порушення метаболізму хряща, запалення та деструктивних процесів у колінному суглобі під час розвитку патології. Введення тваринам із МІА-індукованим ОА мультипробіотичної композиції мало сприятливий ефект на досліджувані параметри, який виражався у знизенні вмісту МСМ та відновленні перерозподілу пептидного пулу хрящової тканини. Отримані результати дають підстави для проведення подальших досліджень, спрямованих на вивчення біологічної дії ПБ на метаболізм хряща, що може сприяти розробленню нових стратегій лікування та профілактики захворювань суглобів.

Ключові слова: остеоартрит, молекули середньої маси, ендогенна інтоксикація, пептидна складова, пробіотична композиція.

О. Савчук, д-р биол. наук,
О. Короткий, д-р биол. наук,
Л. Кот, канд. биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

УРОВЕНЬ СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ В ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ СУСТАВА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ОСТЕОАРТРИТОМ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ

Вопрос по выяснению механизмов, связывающих изменения в костно-мышечной системе с изменениями в микробиоме, за последние несколько лет приобретает особую актуальность. Изучение биологического действия пробиотиков на хрящевой метаболизм при развитии остеоартрита (ОА) открывает перспективы их использования в комплексной терапии и профилактике патологии суставов. Целью работы было проанализировать количественный и качественный состав пептидной составляющей молекул средней массы (МСМ) разных фракций в хрящевой ткани коленного сустава крыс с экспериментальным ОА при введении мультипробиотической (ПБ) композиции. Исследования проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой 180-200 г. Модель экспериментального ОА у крыс создавали путем однократного введения в инфрапателлярный лигамент коленного сустава моноодацетата натрия (МИА; Sigma, США). Животные терапевтической группы ежедневно в течение 14 дней перорально в дозе 140 мг/кг получали живую пробиотическую композицию "Мультипробиотик Симбитер® ацидофильный концентрированный" ("О. Д. Пролисок", Украина). Этаназию животных проводили на 30-е сутки эксперимента. Уровень МСМ оценивали спектрофотометрически. Фракционирование на пептидном уровне осуществляли методом хроматографии, разделяющей по размерам, на колонке из Sephadex G 15.

Показано увеличение содержания МСМ всех исследуемых фракций в хрящевой ткани крыс с экспериментальным ОА, а также установлены изменения качественного и количественного состава их пептидной составляющей, что могло свидетельствовать о развитии эндогенной интоксикации вследствие нарушения метаболизма хряща, воспаления и деструктивных процессов в коленном суставе при развитии патологии. Введение животным с МИА-индуцированным ОА мультипробиотической композиции имело благоприятный эффект на исследуемые показатели, выразившийся в снижении содержания МСМ и восстановлении перераспределения пептидного пула хрящевой ткани. Полученные результаты дают основания для проведения дальнейших исследований, направленных на изучение биологического действия ПБ на метаболизм хряща, что может способствовать разработке новых стратегий лечения и профилактики заболеваний суставов.

Ключевые слова: остеоартрит, молекулы средней массы, эндогенная интоксикация, пептидная составляющая, пробиотическая композиция.

Н. Веденичова, д-р біол. наук,
Г. Аль-Маалі, канд. біол. наук
Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ, Україна,
Л. Кот, канд. біол. наук,
Л. Остапченко, д-р біол. наук,
Л. Гарманчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

РІВЕНЬ ГЛЮКОЗИ ТА ГАММА-ГЛУТАМІЛТРАНСПЕПТИДАЗНА АКТИВНІСТЬ У КЛІТИНАХ ГЕПАТОЦИТАРНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЗА ДІЇ ЕКСТРАКТІВ ТА ЦИТОКІНІНОВИХ ФРАКЦІЙ ЛІКАРСЬКИХ ГРИБІВ

Грибні екстракти виявляють багатофункціональну активність та мають широкий спектр застосування для лікування різних захворювань, зокрема й онкологічних. Проте повний склад сполук, які продукують макроміцети, що виявляють протипухлинні властивості, досі не встановлений. Порушення метаболізму глюкози та активація гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ) у пухлинних клітинах може бути ключовим маркером біохімічної анаплазії при новоутвореннях. Метою роботи було дослідити вплив неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій, виділених із міцеліальної біомаси лікарських грибів, на біологічні властивості клітин гепатоцитарного походження лінії HepG2 (гепатоцитарної карциноми людини). Об'єктами досліджень були чисті культури грибів *Hericium coralloides*, *Fomitopsis officinalis*, *Trametes (Coriolus) versicolor*, *Pleurotus ostreatus* та *Morchella esculenta*. Цитокінінові фракції з екстрактів виділяли центрифугуванням з подальшим фракціонуванням та очищенням за допомогою іонообмінної хроматографії. Якісний і кількісний аналіз цитокінінів проводили методом вискоєфективної рідинної хроматографії. ГГТ-активність визначали за допомогою тест-набору "Філісіт" (Україна), рівень глюкози – глюкозооксидазним методом з модифікаціями для клітинного культурального середовища. При аналізі міцеліальної біомаси лікарських макроміцетів виявлено наявність транс-зеатину, зеатинрибозиду, зеатин-О-глюкозиду та ізопентеніладеніну, що свідчить про високу активність щодо синтезу цитокінінів. Зазначено пригнічення дифузії глюкози із середовища культивування при використанні неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій лікарських грибів та зниження ГГТ-активності, більш виражене при дії цитокінінових фракцій порівняно з неочищеними екстрактами. Різниця між ефектами неочищених екстрактів і цитокінінових фракцій указує на комплексний характер дії біологічно активних речовин лікарських грибів. Проведені дослідження щодо впливу неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій лікарських грибів показали нормалізуючий ефект на основні метаболічні показники, які змінюються в пухлинних клітинах, як механізм біохімічної анаплазії.

Ключові слова: глюкоза, цитокініни, гамма-глутамілтранспептидазна активність, клітини HepG2, лікарські гриби.

Вступ. Зміна біологічних властивостей пухлинних клітин може бути обумовлена різними причинами, в тому числі біохімічною анаплазією та метаболічним перепрограмуванням, яке у пухлинних клітинах включає декілька аспектів [1, 2, 3]. Згідно з теорією Варбурга, одними з основних є анаеробний гліколіз та гостра метаболічна модифікація через депривацію глюкози і суттєве пригнічення тканинного дихання [4]. Ця дисфункція, викликана зниженою активністю мітохондріальних ферментів в умовах гіпоксії, призводить до гальмування електрон-транспортного ланцюга, вираженого споживання глюкози, накопичення лактату та пригнічення апоптичного сигналіну [5]. Мутації генів деяких мітохондріальних білків, зокрема сукцинатдегідрогенази (СДГ), викликають порушення функціонування циклу трикарбонових кислот (ЦТК) та можуть бути не лише наслідком, а й причиною утворення пухлин. Одним із маркерних ферментів при виникненні опірності пухлин є гамма-глутамілтранспептидаза (ГГТ), яка шляхом зв'язування з глутатіоном призводить до зниження біодоступності лікарських препаратів [5]. Таким чином, порушення метаболізму глюкози та активація ферменту антиоксидантного захисту гамма-глутамілтранспептидази в пухлинних клітинах може бути ключовим маркером біохімічної анаплазії при новоутвореннях.

Лікарські гриби як природне джерело протипухлинних речовин привертають увагу науковців упродовж багатьох років [6]. Фармакологічна промисловість в усьому світі виробляє сотні медичних протипухлинних препаратів на основі грибів [7]. До біологічно активних речовин грибів відносять терпеноїди, полісахариди, флавоноїди, β -глюкани, органічні кислоти, пептиди, проте повний склад сполук грибного походження, які виявляють протипухлинний ефект, досі не встановлено [8]. Тому актуальним є дослідження біологічно активних компонентів грибів, які асоціюються з полісахаропептидами або їх молекулярними мішенями і виявляють терапевтичні ефекти [9].

Плодові тіла та міцелії грибів здатні продукувати цитокініни – поліфункціональні фітогормони, які беруть участь у регуляції росту і розвитку рослин. Однією з основних функцій цитокінінів є позитивна регуляція поділу клітин [10]. Водночас у культурі тваринних клітин цитокініни мають протилежний ефект, зокрема блокують клітинний цикл та пригнічують ріст багатьох типів ракових пухлин [11]. Протипухлинні властивості цитокінінів можуть бути подібними до таких, що виявляють лікарські гриби. Оскільки у грибних тканинах концентрація цитокінінів оцінюється як наномолярна, то роль цитокінінів у протипухлинній активності грибів досі була поза увагою дослідників.

Метою представленої роботи є виявлення впливу неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій, виділених із міцеліальної біомаси лікарських грибів, на біологічні властивості ракових клітин HepG2 для з'ясування можливості включення цих фітогормонів до переліку активних інгредієнтів макроміцетів з терапевтичним ефектом.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були чисті культури *Hericium coralloides*, штам 2332, *Fomitopsis officinalis*, штам 5004, *Trametes (Coriolus) versicolor*, штам 353, *Pleurotus ostreatus*, штам 551 та *Morchella esculenta*, штам 1755, які зберігаються у колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України. Умови культивування міцеліальної біомаси описано у попередніх роботах [12].

Неочищені екстракти отримували шляхом гомогенізації міцеліальної біомаси грибів у електричному гомогенізаторі з додаванням розчину 80 %-го етанолу з розрахунку 10 мл розчину на 1 г біомаси за температури +4 °С. Екстракт упарювали під вакуумом за температури +45 °С. Цитокінінові фракції з екстрактів виділяли центрифугуванням при 15000 об/хв із подальшим фракціонуванням із водонасиченим *n*-бутанолом у пропорції 1 : 1 та очищенням за допомогою іонообмінної хроматографії на колонці зі смолою Dowex 50Wx8 у H⁺-формі

(елюція 0,1 М аміаком). Якісний і кількісний аналіз цитокінінів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії на рідинному хроматографі високого тиску Agilent 1200 LC з діодно-матричним детектором G 1315 B (США). Деталі очищення цитокінінів та їх аналіз представлено у роботі [13].

У дослідженні використали клітини гепатоцитарного походження лінії *HepG2* (гепатоцитарної карциноми людини), які культивували у пластикових 96-лункових планшетах (Orange Scientific, Бельгія). Для вирощування та культивування клітин використовували поживне середовище DMEM (Sigma, США) із 10 %-ю ембріональною телячою сироваткою (Sigma, США) в інкубаторі за 100 % вологості, 5 % вмісту CO₂ та за температури 37 °С; а також культивували у безсироваткових умовах.

Визначення гамма-глутамілтрансептидазної активності. Визначення ГГТ-активності в середовищі інкубації клітин лінії *HepG2* за впливу неочищених екстра-

ктів та цитокінінових фракцій лікарських грибів здійснювали за допомогою комерційного тест-набору (Філісіт, Україна) згідно з інструкцією виробника. Принцип методу полягає в тому, що під дією ГГТ глютаміновий залишок з γ -L(+)-глютамін *p*-4-нітроаніліду переходить на діпептидний акцептор гліцил-гліцин. При цьому вивільняється хромоген – *p*-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірювали після зупинення ферментативної реакції розчином оцтової кислоти при довжині хвилі 405 нм.

Рівень поглинання глюкози. Рівень глюкози в інкубаційному середовищі клітин визначали за допомогою стандартного набору реактивів на основі реакції глюкозооксидази, яку модифікували для клітинного культурального середовища згідно з [14].

Результати та їх обговорення. При аналізі міцеліальної біомаси п'яти видів лікарських макроміцетів було виявлено наявність *транс*-зеатину, зеатинрибозиду, зеатин-*O*-глюкозиду та ізопентеніладеніну (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі лікарських грибів, нМ/г сухої речовини

Варіант досліджу	t-Z *	ZR*	iP*	ZOG*	Σ
<i>Hericium coralloides</i> штам 2332	33,56±1,67	11,55±0,57	13,08±0,63	0	58,19
<i>Fomitopsis officinalis</i> штам 5004	8,62±0,43	9,68±0,46	0	10,20±0,51	28,50
<i>Trametes versicolor</i> штам 353	10,03±0,49	4,30±0,21	0	0,16±0,008	14,49
<i>Pleurotus ostreatus</i> штам 551	0	0	0	26,09±1,29	26,09
<i>Morchella esculenta</i> штам 1755	46,44±2,32	0	7,18±0,35	16,60±0,82	70,22

Примітка: *t-Z – *транс*-зеатин, *ZR – зеатинрибозид, *iP – ізопентеніладенін, *ZOG – зеатин-*O*-глюкозид.

Зокрема, у *T. versicolor*, штам 353, і *H. coralloides*, штам 2332, переважали зеатинподібні гормони, серед яких найвищим був вміст *транс*-зеатину. У *P. ostreatus*, штам 551, і *F. officinalis*, штам 5004, міцеліальна біомаса характеризувалася значною концентрацією кон'югату, зеатин-*O*-глюкозиду, неактивної форми, яка вважається "депо" цитокінінів через здатність легко розщеплюватися β -глюкозидазою з утворенням вільного зеатину. Міцеліальна біомаса *M. esculenta*, штам 1755, і *H. coralloides*, штам 2332, містила ізопентеніладенін, який є первинним продуктом біосинтезу цитокінінів, що свідчило про високу синтетичну активність щодо цитокінінів у цього виду. Загалом, як показали отримані результати, якісний склад і кількісний вміст цитокінінів у грибів є видоспецифічною ознакою.

Цитокініни відомі як позитивні регулятори поділу ролінних клітин [10], тоді як у культурах клітин тварин і людини вони спричиняють протилежну дію. Зокрема, додавання цитокініну до культур багатьох видів пухлинних клітин викликало блокування проходження клітинного циклу й апоптоз [11]. Ізопентеніладенозин і бензиладенозин затримували перехід до G₀/G₁ фази клітинного циклу в культурі клітин карциноми сечового міхура, дезорганізуючи актиновий цитоскелет [15]. Ізопентеніладенозин у концентрації 10 μ M інгібував утворення колоній клітин восьми ліній раку людини різних типів і з різних тканин, включаючи рак легень, грудей, печінки [16], при цьому було виявлено індукцію генів негативної регуляції проходження клітинного циклу [17]. Апоптоз клітин цервікального раку людини *HeLa* за дії цитокініну був спричинений зв'язуванням фітогормону з доменом гена, що кодує специфічний фактор некрозу пухлинних клітин, а також репресією протеїнкіназної активності [18]. Пригнічення проліферації клітин меланоми було пов'язано із впливом цитокініну на аутофагоцитарну систему [19]. Причиною загибелі клітин мієлоїдної лейкемії при внесенні в культуру рибозиду орто-тополіну була активація внутрішніх мітохондріальних метаболічних шляхів [20]. Слід зауважити, що найбільшу протипухлинну активність демонстрували рибозидні форми цитокінінів [21]. Загалом цитокініни виявляють цитотокси-

чну та імуномодулюючу дію, їх розглядають як перспективні сучасні біологічно активні сполуки з високим терапевтичним потенціалом [22].

Усі досліджені види грибів широко використовуються у традиційній китайській медицині понад 2000 років як загальнозміцнювальні й терапевтичні засоби, що забезпечують витривалість і довголіття, а також лікують численні хвороби. Сучасні клінічні дослідження екстрактів *T. versicolor* показали, що вони сприяють виживанню та поліпшенню якості життя пацієнтів з онкологією, гепатопатією, гіперліпідемією, хронічним бронхітом та іншими захворюваннями [23, 24]. На основі *T. versicolor* було створено 14 типів ліків і оздоровчих препаратів для клінічного і комерційного використання, які підвищують активність імунних клітин, зміцнюють фагоцитоз макрофагів, підсилюють експресію цитокінів і хемокінів, зокрема таких, як фактор некрозу пухлин α , інтерлейкіни, гістамін, простагландин Е, стимулюють проникнення Т-клітин і дендритних клітин у пухлини, усуваючи негативні наслідки хіміотерапії [25, 26]. Очищені хроматографічними методами фракції полісахаридів із плодів тіл *P. ostreatus* виявляли цитотоксичний протипухлинний ефект на клітини цервікального раку людини [27], карциноми і саркоми Ерліха [28]. Вони також негативно впливали на проліферацію клітин раку шлунка людини, інгібували утворення колоній ракових клітин, їхню міграцію та виживання *in vitro*, а також значно зменшували вагу і розмір пухлин у мишей при застосуванні *in vivo* [29]. Припускають, що протипухлинна активність метанольних екстрактів *M. esculenta* за умов раку легень людини спричинена дією стеролів і жирних кислот [30], тоді як антипроліферативна активність проти клітин гепатоми – наявністю гетерополісахаридів [31]. Полісахариди інгібували проліферацію і ріст ракових клітин товстої кишки людини [32]. Біоактивні речовини, виділені з *M. esculenta*, використовують як антиоксиданти, імуномодулятори, для лікування онкологічних і запальних захворювань тощо [33]. Раніше нами було встановлено, що екстракти *H. coralloides* і *F. officinalis* спричиняють апоптоз ракових клітин *HepG2* [34].

Здатність міцеліальної біомаси грибів з високим фармакологічним потенціалом продукувати цитокініни у

великих кількостях і порівняння спектрів фармакологічних властивостей лікарських грибів і цитокінінів дозволяють припустити, що цитокініни є одним із компонентів, які забезпечують терапевтичний ефект макроміцетів. У зв'язку із цим було проведено тестування дії екстрактів із міцеліальної біомаси грибів, які містили цитокініни, на культуру патогенних клітин HepG2.

Дисфункція мітохондрій є однією з визначальних ланок у токсичності хіміопрепаратів, що використовуються в онкологічній практиці. Невдалими випробуваннями клінічного та доклінічного скринінгу деякою мірою можна

запобігти, використовуючи у прескринінгу клітини гепатоцитарного походження. Як модельний об'єкт для досліджень метаболічних дисфункцій, пов'язаних із таргетним впливом на шляхи детоксикаційної системи, використовують клітини гепатоцитарного походження людини HepG2 [35–37].

При використанні неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій деяких лікарських грибів було зафіксовано пригнічення дифузії глюкози із середовища культивування (табл. 2)

Таблиця 2. Рівень поглинутої глюкози клітинами HepG2 за дії неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій лікарських грибів за умов культивування в повному поживному середовищі та в умовах безсироваткового культивування

Зразки	<i>Hericium coralloides</i>	<i>Fomitopsis officinalis</i>	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Morchella esculenta</i>
Неочищені екстракти	1,9±0,1*	3,2±1,0*	3,6±0,9*	6,2±0,8	3,3±1,1*
Цитокінінові фракції	2,4±0,2*^	4,3±0,3*	5,8±0,7^	4,9±1,2	7,9±0,8^
Контроль (RPMI+10 % FBS)	6,3±0,5				
Неочищені екстракти	6,7±1,4#	5,9±1,8	7,4±2,4#	9,5±0,6#	11,4±0,2#
Цитокінінові фракції	6,1±2,0#	3,2±0,5*	4,4±0,5*	5,5±1,9^	5,3±2,3^#
Контроль (безсироваткове середовище RPMI)	8,6±0,5				

Примітка: * – P<0,05 щодо контролю (без додавання зразків неочищених екстрактів та цитокінінових фракцій); ^ – P<0,05 щодо відповідних неочищених екстрактів; # – P<0,05 – різниця між культивуванням у середовищі із сироваткою проти безсироваткового середовища відповідних зразків.

Як свідчать результати досліджень, у більшості випадків виявлено пригнічення дифузії глюкози у клітинах за дії неочищених екстрактів та очищених цитокінінових фракцій деяких лікарських грибів за стандартних умов культурального середовища (RPMI+10 % FBS). Лише при додаванні екстракту та цитокінінових фракцій *P. ostreatus* і *M. esculenta* не виявлено відмінностей від контролю. За умов культивування в безсироватковому середовищі лише за додавання цитокінінових фракцій *F. officinalis* та *T. versicolor* виявлено зменшення дифузії глюкози у клітинах, а у випадку грубого екстракту *M. esculenta* виявлено збільшення глюкозного показника

порівняно з контролем. При додаванні інших зразків рівень поглинання глюкози практично не відрізнявся від контролю. При порівнянні умов культивування без додавання сироватки з контролем у повному поживному середовищі загалом неочищені екстракти та цитокінінові фракції збільшували рівень поглинання глюкози клітинами HepG2.

Наступним важливим етапом визначення впливу екстрактів лікарських грибів було дослідження їх впливу на ГТТ-активність. Показано, що більш виражений пригнічувальний ефект на ГТТ-активність виявили цитокінінові фракції порівняно з неочищеними екстрактами (рис. 1).

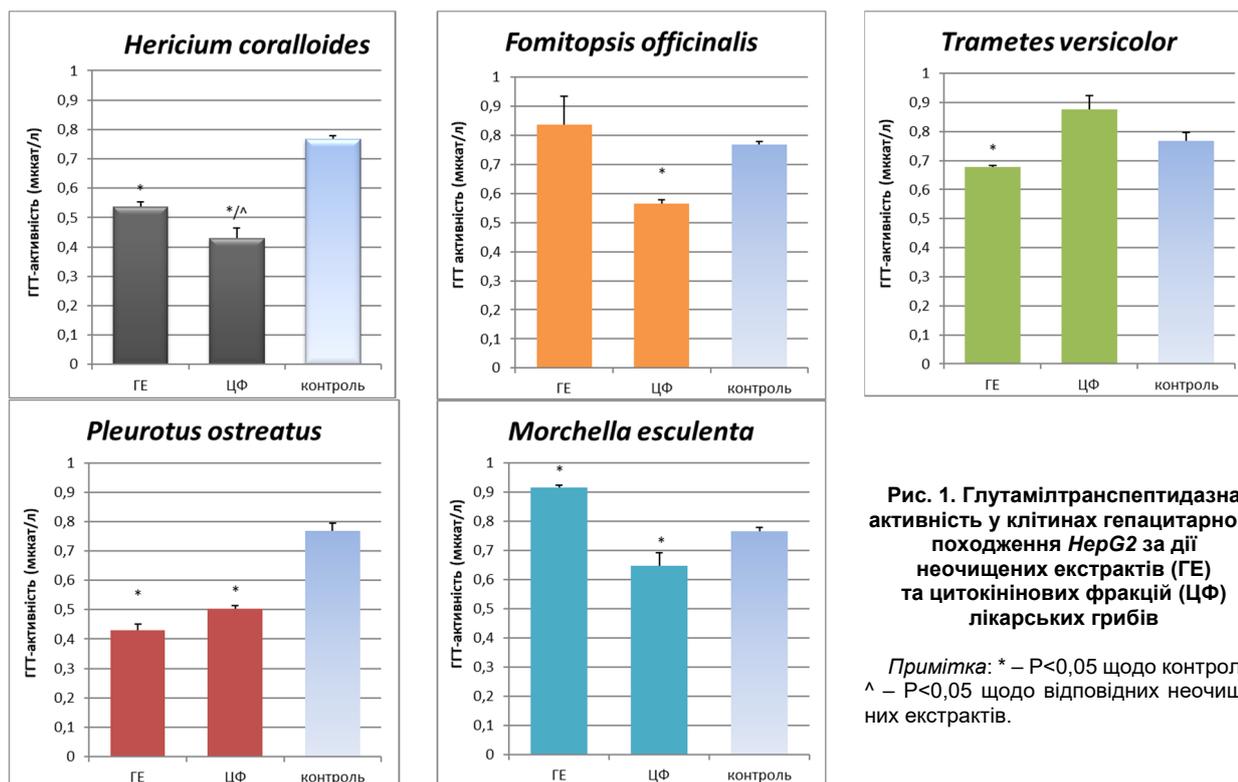


Рис. 1. Глутамілтранспептидазна активність у клітинах гепатоцитарного походження HepG2 за дії неочищених екстрактів (ГЕ) та цитокінінових фракцій (ЦФ) лікарських грибів

Примітка: * – P<0,05 щодо контролю; ^ – P<0,05 щодо відповідних неочищених екстрактів.

Як свідчать наведені дані (рис. 1), за дії цитокінінових фракцій лікарських грибів (за виключенням *T. versicolor*) ГТТ-активність пригнічувалася в 1,3–1,4 раза порівняно з контролем. Три із досліджених неочищених екстрактів лікарських грибів також пригнічували ГТТ-активність, тоді як дія на клітини неочищених екстрактів *F. officinalis* та *M. esculenta* збільшувала ферментативну активність.

Отже, проведені дослідження щодо впливу грубих екстрактів та цитокінінових фракцій лікарських грибів показали нормалізуючий ефект на основні метаболічні показники, що змінюються в пухлинних клітинах як механізм біохімічної анаплазії.

Висновки. Отримані результати опосередковано вказують на те, що цитокініни можуть бути одним із біологічно активних компонентів лікарських грибів. Склад і вміст ендогенних цитокінінів є видоспецифічною ознакою, як і ступінь впливу на пухлинні клітини. Різниця між ефектами неочищених екстрактів і цитокінінових фракцій свідчить про комплексний характер дії біологічно активних речовин лікарських грибів.

Робота виконана за підтримки гранту НАН України 8В "Дослідження протипухлинних властивостей біологічно активних речовин цитокінінової природи з міцеляльної біомаси лікарських базидієвих грибів", Но ДР 0119У10172

Список використаних джерел

1. Ward P. S. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even Warburg did not anticipate / P. S. Ward, C. B. Thompson // *Cancer Cell*. – 2013. – Vol. 21, № 3. – P. 297-308.
2. γ -Glutamyl transpeptidase accelerates tumor growth and increases the resistance of tumors to cisplatin in vivo / M. H. Hanigan, B. C. Gallagher, D. M. Townsend, V. Gabarra // *Oxford Journal*. – 1999. – Vol. 20, № 4. – P. 559.
3. Gamma-glutamyltransferase of cancer cells at the crossroads of tumor progression, drug resistance and drug targeting / A. Corti, M. Franzini, A. Paolicchi, A. Pompella // *Anticancer Research*. – 2010. – Vol. 30, № 4. – P. 69-81.
4. Okon I. S. Mitochondrial ROS and cancer drug resistance: Implications for therapy / I. S. Okon, M.-H. Zou // *Pharmacology Research*. – 2015. – Vol. 100. – P. 170-174.
5. Narrative review: bioactive potential of various mushrooms as the treasure of versatile therapeutic natural product [Electronic resource] / H. Chopra, A. K. Mishra, A. A. Baig et al. // *Journal of Fungi*. – 2021. – Vol. 7. – P. 728. – Access mode : <https://doi.org/10.3390/jof7090728>.
6. Wasser S. P. Medicinal mushrooms in human clinical studies. Part I. Anticancer, oncoimmunological and immunomodulatory activities: a review / S. P. Wasser // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. – 2017. – Vol. 19, № 4. – P. 279-317.
7. Cancer without pharmacological illusions and a niche for mycotherapy (review) / I. V. Zmitrovich, N. V. Belova, M. E. Balandaykin et al. // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. – 2019. – Vol. 21, № 2. – P. 105-119.
8. Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy / A. Blagodatski, M. Yatsunskaya, V. Mikhailova et al. // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9, № 49. – P. 29259–29274.
9. Promising anti-cancer therapeutics from mushrooms: current findings and future perceptions / M. K. Panda, M. Paul, S. K. Singdevsachan et al. // *Current Pharmaceutical Biotechnology*. – 2021. – Vol. 22(9). – P. 1164-1191.
10. Веденичова Н. П. Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання / Н. П. Веденичова, І. В. Косаківська. – К.: Наш формат, 2017.
11. Anticancer activity of natural cytokinins: a structure-activity relationship study / J. Voller, M. Zatloukal, R. Lenobel et al. // *Phytochemistry*. – 2010. – Vol. 71. – P. 1350-1359.
12. Колекція культур шапинкових грибів (ІВК) / Н. А. Бісько, М. Л. Ломберг, Н. Ю. Митропольська, О. Б. Михайлова. – К.: Альтер-прес, 2016.
13. Endogenous cytokinins in medicinal basidiomycetes mycelial biomass / N. P. Vedenicheva, G. A. Al-Maali, N. Yu. Mytropolska et al. // *Biotechnologia Acta*. – 2016. – Vol. 9, № 1. – P. 55-63.
14. Influence of VEGF, EGF and their antagonists on proliferative activity and glucose consumption by endothelial cells / T. Nikolaienko, N. Petruk, D. Shelest, L. Garmanchuk // *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv*. – 2015. – Vol. 69, № 1. – P. 36-38.
15. N⁶-isopentenyladenosine and its analogue N⁶-benzyladenosine induce cell cycle arrest and apoptosis in bladder carcinoma T24 cells / S. Castiglioni, S. Casati, R. Ottria et al. // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. – 2013. – Vol. 13. – P. 672-678.
16. N⁶-isopentenyladenosine: a potential therapeutic agent for a variety of epithelial cancers / M. Spinola, F. Colombo, F. S. Falvella, T. A. Dragani // *International Journal of Cancer*. – 2007. – Vol. 120. – P. 2744-2748.
17. Pharmacogenomics and analogues of the antitumor agent N⁶-isopentenyladenosine / F. Colombo, F. S. Falvella, L. De Cecco et al. // *International Journal of Cancer*. – 2009. – Vol. 124. – P. 2179-2185.
18. N⁶-isopentenyladenosine promoted HeLa cell apoptosis through inhibitions of AKT and transforming growth factor β -activated kinase 1 activation [Electronic resource] / M. Li, Y. Qi, J. Wei et al. // *Tumor Biology*. – 2017. – Access mode : <https://doi.org/10.1177/1010428317695966>.
19. N⁶-isopentenyladenosine dual targeting of AMPK and Rab7 prenylation inhibits melanoma growth through the impairment of autophagic flux / R. Ranieri, E. Ciaglia, G. Amodio et al. // *Cell Death and Differentiation*. – 2018. – Vol. 25. – P. 353-367.
20. Orto-topolin riboside induces apoptosis in acute myeloid leukemia HL-60 cells / L. Wang, D. L. Yu, H. W. Zhang et al. // *Molecular and Cellular Toxicology*. – 2016. – Vol. 12, № 2. – P. 159-166.
21. Anti-cancer activities of cytokinin ribosides / J. Voller, T. Béres, M. Zatloukal et al. // *Phytochemistry Reviews*. – 2019. – Vol. 18. – P. 1101-1113.
22. Drenichev M. S. Cytokinin nucleosides – natural compounds with a unique spectrum of biological activities / M. S. Drenichev, V. E. Oslovsky, S. N. Mikhailov // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – 2016. – Vol. 16, № 23. – P. 2562-2576.
23. Preclinical and clinical studies of Coriolus versicolor polysaccharopeptide as an immunotherapeutic in China / Y. Y. Chang, M. Zhang, Y. F. Jiang et al. // *Discovery Medicine*. – 2017. – Vol. 23(127). – P. 207-219.
24. Li J. F. Biological characteristics, pharmacological action and application prospect of Coriolus versicolor / J. F. Li // *Journal of Anhui Agricultural Sciences*. – 2003. – Vol. 1, № 3. – P. 509-510.
25. Dou H. Coriolus versicolor polysaccharopeptide as an immunotherapeutic in China / H. Dou, Y. Chang, L. Zhang // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. – 2019. – Vol. 163. – P. 361-381.
26. Habtemariam S. *Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) polysaccharides in cancer therapy: targets and efficacy / S. Habtemariam // *Biomedicines*. – 2020. – Vol. 8, № 5. – P. 135. – doi:10.3390/biomedicines8050135.
27. Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* / H. Tong, F. Xia, K. Feng et al. // *Bioresource Technology*. – 2009. – Vol. 100. – P. 1682-1686.
28. Antitumor activity of *Pleurotus ostreatus* polysaccharide fractions on Ehrlich tumor and Sarcoma 180 / J. M. Facchini, E. P. Alves, C. Aguilera et al. // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2014. – Vol. 68. – P. 72-77.
29. Antitumor activity of polysaccharide extracted from *Pleurotus ostreatus* mycelia against gastric cancer in vitro and in vivo / X. Cao, J. Liu, W. Yang et al. // *Molecular Medicine Reports*. – 2015. – Vol. 12. – P. 2383-2389.
30. Bioactivity-guided isolation and chemical characterization of antiproliferative constituents from morel mushroom (*Morchella esculenta*) in human lung adenocarcinoma cells / S. R. Lee, H. S. Roh, S. Lee et al. // *Journal of Functional Foods*. – 2018. – Vol. 40. – P. 249-260.
31. Induction of apoptosis in HepG2 cells by polysaccharide MEP-II from the fermentation broth of *Morchella esculenta* / M. Hu, Y. Chen, C. Wang et al. // *Biotechnology Letters*. – 2013. – Vol. 35. – P. 1-10.
32. Characteristics and antitumor activity of *Morchella esculenta* polysaccharide extracted by pulsed electric field [Electronic resource] / C. Liu, Y. Sun, Q. Mao et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – Vol. 17. – P. 986. – Access mode : <https://doi.org/10.3390/ijms17060986>.
33. Recent advances on bioactive ingredients of *Morchella esculenta* / H. Wu, J. Chen, J. Li et al. // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2021. – doi: 10.1007/s12010-021-03670-1.
34. Effect of cytokinin-containing extracts from some medicinal mushrooms mycelia on HepG2 cells in vitro / N. P. Vedenicheva, G. A. Al-Maali, N. A. Bisko et al. // *International Journal of Medicinal Mushrooms*. – 2021. – Vol. 23, № 3. – P. 15-28.
35. Circumventing the crab tree effect: replacing media glucose with galactose increases susceptibility of HepG2 cells to mitochondrial toxicants / L. D. Marroquin, J. Hynes, J. A. Dykens et al. // *Toxicological Sciences*. – 2007. – Vol. 97. – P. 539-547.
36. Characterization of primary human hepatocytes, HepG2 cells, and HepaRG cells at the mRNA level and CYP activity in response to inducers and their predictivity for the detection of human hepatotoxins / H. H. J. Gerets, K. Tilmant, B. Gerin et al. // *Cell Biology and Toxicology*. – 2012. – Vol. 28. – P. 69-87.
37. The utility of HepG2 cells to identify direct mitochondrial dysfunction in the absence of cell death / L. Kamalian, A. E. Chadwick, M. Bayliss et al. // *Toxicology in Vitro*. – 2015. – Vol. 29. – P. 732-740.

References (Scopus)

1. Ward PS, Thompson CB. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even Warburg did not anticipate. *Cancer Cell*. 2013;21(3):297-308.
2. Hanigan MH, Gallagher BC, Townsend DM, Gabarra V. γ -glutamyl transpeptidase accelerates tumor growth and increases the resistance of tumors to cisplatin in vivo. *Oxford J*. 1999;20(4):553-559.
3. Corti A, Franzini M, Paolicchi A, Pompella A. Gamma-glutamyltransferase of cancer cells at the crossroads of tumor progression, drug resistance and drug targeting. *Anticancer Res*. 2010;30(4):69-81.
4. Okon IS, Zou M-H. Mitochondrial ROS and cancer drug resistance: Implications for therapy. *Pharmacol Res*. 2015;100:170-174.
5. Chopra H, Mishra AK, Baig AA, Mohanta TK, Mohanta YK, Baek K-H. Narrative review: bioactive potential of various mushrooms as the treasure of

versatile therapeutic natural product. *J Fungi*. 2021;7:728. <https://doi.org/10.3390/jof7090728>.

6. Wasser SP. Medicinal mushrooms in human clinical studies. Part I. Anticancer, oncoimmunological and immunomodulatory activities: a review. *Int J Med Mushrooms*. 2017;19(4):279-317.

7. Zmitrovich IV, Belova NV, Balandaykin ME, Bondartseva MA, Wasser SP. Cancer without pharmacological illusions and a niche for mycotherapy (review). *Int J Med Mushrooms*. 2019;21(2):105-119.

8. Blagodatski A, Yatsunskaya M, Mikhailova V, et al. Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy. *Oncotarget*. 2018;9(49):29259-29274.

9. Panda MK, Paul M, Singdevsachan SK, Tayung K, Das SK, Thatoi H. Promising anti-cancer therapeutics from mushrooms: current findings and future perceptions. *Curr. Pharm. Biotechnol*. 2021;22(9):1164-1191.

10. Vedenicheva NP, Kosakivska IV. Cytokinins as regulators of plant ontogenesis under different growth conditions. *Kyiv: Nash Format*; 2017. 200 p.

11. Voller J, Zatloukal M, Lenobel R, et al. Anticancer activity of natural cytokinins: a structure – activity relationship study. *Phytochemistry*. 2010;71:1350-1359.

12. Bisko NA, Lomberg ML, Mytropolska NYu, Mykchaylova O.B. The IBK mushroom culture collection. *Kyiv: Alterpress*; 2016. 120 p.

13. Vedenicheva NP, Al-Maali GA, Mytropolska NYu, et al. Endogenous cytokinins in medicinal basidiomycetes mycelial biomass. *Biotechnol Acta*. 2016;9(1):55-63.

14. Nikolaienko T, Petruk N, Shelest D, Garmanchuk L. Influence of VEGF, EGF and their antagonists on proliferative activity and glucose consumption by endothelial cells. *Bull. T. Shevchenko Nat. Univ. Kyiv*. 2015;69(1):36-38.

15. Castiglioni S, Casati S, Ottria R, et al. N⁶-isopentenyladenosine and its analogue N⁶-benzyladenosine induce cell cycle arrest and apoptosis in bladder carcinoma T24 cells. *Anti-Cancer Agents Med Chem*. 2013;13:672-678.

16. Spinola M, Colombo F, Falvella FS, Dragani TA. N⁶-isopentenyladenosine: a potential therapeutic agent for a variety of epithelial cancers. *Int J Cancer*. 2007;120:2744-2748.

17. Colombo F, Falvella FS, De Cecco L, et al. Pharmacogenomics and analogues of the antitumor agent N⁶-isopentenyladenosine. *Int J Cancer*. 2009;124:2179-2185.

18. Li M, Qi Y, Wei J, Lu L, Zhao X, Zhou L. N⁶-isopentenyladenosine promoted HeLa cell apoptosis through inhibitions of AKT and transforming growth factor β -activated kinase 1 activation. *Tumor Biol*. 2017. <https://doi.org/10.1177/1010428317695966>.

19. Ranieri R, Ciaglia E, Amodio G, et al. N⁶-isopentenyladenosine dual targeting of AMPK and Rab7 prenylation inhibits melanoma growth through the impairment of autophagic flux. *Cell Death Differ*. 2018;25:353-367.

20. Wang L, Yu DL, Zhang HW, He LY, Wu L. Orto-topolin riboside induces apoptosis in acute myeloid leukemia HL-60 cells. *Mol Cell Toxicol*. 2016;12(2):159-166.

21. Voller J, Bérés T, Zatloukal M, Džubák P, et al. Anti-cancer activities of cytokinin ribosides. *Phytochem Rev*. 2019;18:1101-1113.

22. Drenichev MS, Oslovsky VE, Mikhailov SN. Cytokinin nucleosides – natural compounds with a unique spectrum of biological activities. *Curr Top Med Chem*. 2016;16(23):2562-2576.

23. Chang YY, Zhang M, Jiang YF, et al. Preclinical and clinical studies of *Coriolus versicolor* polysaccharopeptide as an immunotherapeutic in China. *Discov Med*. 2017;23(127):207-219.

24. Li JF. Biological characteristics, pharmacological action and application prospect of *Coriolus versicolor*. *J Anhui Agri Sci*. 2003;1(3):509-510.

25. Dou H, Chang Y, Zhang L. *Coriolus versicolor* polysaccharopeptide as an immunotherapeutic in China. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2019;163:361-381.

26. Habtemariam S. *Trametes versicolor* (Synn. *Coriolus versicolor*) polysaccharides in cancer therapy: targets and efficacy. *Biomedicines*. 2020;8(5):135. doi:10.3390/biomedicines8050135.

27. Tong H, Xia F, Feng K, et al. Structural characterization and in vitro antitumor activity of a novel polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Bioresour Technol*. 2009;100:1682-1686.

28. Facchini JM, Alves EP, Aguilera C, et al. Antitumor activity of *Pleurotus ostreatus* polysaccharide fractions on Ehrlich tumor and Sarcoma 180. *Int J Biol Macromol*. 2014;68:72-77.

29. Cao X, Liu J, Yang W, Hou X, Li Q. Antitumor activity of polysaccharide extracted from *Pleurotus ostreatus* mycelia against gastric cancer in vitro and in vivo. *Mol Med Reports*. 2015;12:2383-2389.

30. Lee SR, Roh HS, Lee S, et al. Bioactivity-guided isolation and chemical characterization of antiproliferative constituents from morel mushroom (*Morchella esculenta*) in human lung adenocarcinoma cells. *J Funct Foods*. 2018;40:249-260.

31. Hu M, Chen Y, Wang C, et al. Induction of apoptosis in HepG2 cells by polysaccharide MEP-II from the fermentation broth of *Morchella esculenta*. *Biotechnol Lett*. 2013;35:1-10.

32. Liu C, Sun Y, Mao Q, et al. Characteristics and antitumor activity of *Morchella esculenta* polysaccharide extracted by pulsed electric field. *Int J Mol Sci*. 2016;17:986. <https://doi.org/10.3390/ijms17060986>.

33. Wu H, Chen J, Li J, Liu Y, Park HJ, Yang L. Recent advances on bioactive ingredients of *Morchella esculenta*. *Appl Biochem Biotechnol*. 2021. doi:10.1007/s12010-021-03670-1.

34. Vedenicheva NP, Al-Maali GA, Bisko NA, Kosakivska IV, Ostrovska GV, Khranovska NM, Horbach OI, Garmanchuk LV, Ostapchenko LI. Effect of cytokinin-containing extracts from some medicinal mushrooms mycelia on HepG2 cells in vitro. *Intern J Med Mushrooms*. 2021;23(3):15-28.

35. Marroquin LD, Hynes J, Dykens JA, Jamieson JD, Will Y. Circumventing the crab tree effect: replacing media glucose with galactose increases susceptibility of HepG2 cells to mitochondrial toxicants. *Toxicol Sci*. 2007;97:539-547.

36. Gerets HHJ, Tilmant K, Gerin B, et al. Characterization of primary human hepatocytes, HepG2 cells, and HepaRG cells at the mRNA level and CYP activity in response to inducers and their predictivity for the detection of human hepatotoxins. *Cell Biol Toxicol*. 2012;28:69-87.

37. Kamalian L, Chadwick AE, Bayliss M, et al. The utility of HepG2 cells to identify direct mitochondrial dysfunction in the absence of cell death. *Toxicol in Vitro*. 2015;29:732-740.

Надійшла до редколегії 22.09.2021
Отримано виправлений варіант 22.10.2021
Підписано до друку 22.10.2021

Received in the editorial 22.09.2021
Received version on 22.10.2021
Signed in the press on 22.10.2021

Н. Веденичева, д-р биол. наук,
Г. Аль-Маали, канд. биол. наук
Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев, Украина,
Л. Кот, канд. биол. наук,
Л. Остапченко, д-р биол. наук,
Л. Гарманчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ И ГАММА-ГЛУТАМИЛТРАНСПЕПТИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В КЛЕТКАХ ГЕПАТОЦИТАРНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТОВ И ЦИТОКИНИНОВЫХ ФРАКЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ

Грибные экстракты проявляют многофункциональную активность, а также имеют широкий спектр применения для лечения различных заболеваний, в том числе онкологических. Однако полный состав соединений, которые продуцируют макромицеты, обладающие противоопухолевыми свойствами, до сих пор не установлен. Нарушение метаболизма глюкозы и активация гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ) в опухолевых клетках может быть ключевым маркером биохимической анаплазии при новообразованиях. Целью работы было исследовать влияние неочищенных экстрактов и цитокининовых фракций, выделенных из мицелиальной биомассы лекарственных грибов, на биологические свойства клеток гепатоцитарного происхождения линии HepG2 (гепатоцитарной карциномы человека). Объектами исследований были чистые культуры грибов *Hericium coralloides*, *Fomitopsis officinalis*, *Trametes (Coriolus) versicolor*, *Pleurotus ostreatus* и *Morchella esculenta*. Цитокининовые фракции из экстрактов выделяли центрифугированием с последующим фракционированием и очисткой с помощью ионообменной хроматографии. Качественный и количественный анализ цитокининов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. ГГТ-активность определяли с помощью тест-набора "Филисит" (Украина), уровень глюкозы – глюкозооксидазным методом с модификациями для клеточной культуральной среды. При анализе мицелиальной биомассы лекарственных макромицетов выявлено наличие транс-зеатина, зеатинрибозида, зеатин-О-глюкозида и изопентениладенина, что свидетельствует о высокой активности в отношении синтеза цитокининов. Отмечено угнетение диффузии глюкозы из среды культивирования при использовании неочищенных экстрактов и цитокининовых фракций лекарственных грибов, а также снижение ГГТ-активности, более выраженное при действии цитокининовых фракций по сравнению с неочищенными экстрактами. Разница между эффектами неочищенных экстрактов и цитокининовых фракций указывает на комплексный характер действия биологически активных веществ лекарственных грибов. Проведенные исследования по влиянию неочищенных экстрактов и цитокининовых фракций лекарственных грибов обнаружили нормализующий эффект на основные метаболические показатели, изменяющиеся в опухолевых клетках, как механизм биохимической анаплазии.

Ключевые слова: глюкоза, цитокинины, гамма-глутамилтранспептидазная активность, клетки HepG2, лекарственные грибы.

N. Vedenicheva, Dr Hab.,
G. Al-Maali, PhD
Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
L. Kot, PhD,
L. Ostapchenko, Dr Hab., Prof.,
L. Garmanchuk, Dr Hab.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

THE GLUCOSE LEVEL AND GAMMA-GLUTAMYL TRANSEPTIDASE ACTIVITY IN HEPATOCYTE-LIKE CELLS UNDER THE ACTION OF EXTRACTS AND CYTOKININ FRACTIONS OF MEDICINAL MUSHROOMS

*Mushroom extracts show the multifunctional activity and have a wide range of applications for the treatment of various diseases, including cancer. However, the full composition of the compounds that produce macromycetes that exhibit antitumor properties has not yet been established. Impaired glucose metabolism and activation of gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) in tumor cells may be a key marker of biochemical anaplasia in neoplasms. The aim of the study was to investigate the effect of crude extracts and cytokinin fractions isolated from the mycelial biomass of medicinal mushrooms on the biological properties of cells of hepatocyte-like cells of the HepG2 line (human hepatocellular carcinoma). The objects of the research were pure mushroom cultures of *Hericium coralloides*, *Fomitopsis officinalis*, *Trametes (Coriolus) versicolor*, *Pleurotus ostreatus* and *Morchella esculenta*. Cytokinin fractions from the extracts were isolated by centrifugation followed by fractionation and purification using ion exchange chromatography. Qualitative and quantitative analysis of cytokinins was performed by high-performance liquid chromatography. GGT activity was determined using the kit "Filisit" (Ukraine), glucose level – glucose oxidase method, with modifications for the cellular culture medium. The analysis of mycelial biomass of medicinal macromycetes revealed the presence of trans-zeatin, zeatin riboside, zeatin-O-glucoside and isopentenyladenine, that showed high activity in relation to cytokinin synthesis. Inhibition of glucose diffusion from the cultivation medium with the use of crude extracts and cytokinin fractions of medicinal mushroom and a decrease in GGT activity, more pronounced with the action of cytokinin fractions, compared with crude extracts, was noted. The difference between the effects of crude extracts and cytokinin fractions indicated the complex nature of the action of biologically active substances of medicinal mushroom. Presented results regarding the effects of crude extracts and cytokinin fractions of medicinal mushroom showed a normalizing effect on the main metabolic parameters which change in tumor cells, as a mechanism of biochemical anaplasia.*

Keywords: glucose, cytokinins, gamma-glutamyl transpeptidase activity, HepG2 cells, medicinal mushrooms.

УДК 612.82/83; 612.821
DOI 10.17721/1728.2748.2021.87.51-55

Т. Куценко, канд. біол. наук, доц.,
М. Вістизенко, студ.,
Д. Наседкін, мол. наук. співроб.
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВИЯВ ЕМОЦІЙНОГО ЕФЕКТУ СТРУПА У СТУДЕНТІВ ПРИ РЕАГУВАННІ НА СЛОВА ІЗ СЕМАНТИЧНОГО ПОЛЯ "АЛКОГОЛЬ"

На практиці психологам, соціальним працівникам, криміналістам, рекламодавцям тощо доводиться стикатись із необхідністю виявлення у певної особи прихованої, неусвідомлюваної або й завідомо неправдивої інформації. Допомогти в цьому може емоційний тест Струпа (ЕТС), який заснований на відмінностях у латентному періоді (ЛП) реакції (час реагування) на емоційно забарвлені та нейтральні слова. У статті викладено результати дослідження застосування емоційних слів із семантичного поля "алкоголь" під час проходження студентами ЕТС. В обстеженні взяли участь студенти віком від 18 до 23 років, 9 хлопців і 12 дівчат. Виявлено емоційний ефект Струпа (ЕЕС), а саме довший час реагування на емоційно забарвлені слова порівняно з нейтральними, що підтверджує ефективність методики ЕТС для виявлення прихованих схильностей обстежуваного. ЕЕС сильніше виявився у жінок порівняно із чоловіками, що, імовірно, можна пояснити частішим уживанням алкоголю чоловіками, які не вбачають у таких подразниках нічого особливого. Цікавим виявився отриманий зв'язок між ЛП реакції на емоційні слова і групою крові (за системою АВО) у жінок. Жінки з першою групою крові мали довші ЛП реакції при виконанні ЕТС порівняно із жінками з другою групою крові, тоді як жінки з третьою групою крові мали проміжні значення ЛП реакції. Отже, як і чоловіки, жінки з другою групою крові не вбачали у словах із семантичного поля "алкоголь" нічого надзвичайного. У жінок з першою групою крові також найсильніше виявився ЕЕС у різниці ЛП реакції на нейтральні та емоційні слова для лівої руки, що свідчить про залучення до оброблення емоційної інформації правої півкулі. Отримані результати потребують додаткових досліджень, оскільки вибірка була невеликою. Проте можна припустити, що схильність до вживання алкоголю і емоційне реагування на нього пов'язані з групою крові та біохімічними особливостями організму, тому подальші дослідження в цьому напрямку є перспективними.

Ключові слова: емоційний ефект Струпа, латентний період реакції, алкоголь, група крові.

Вступ. Емоційний тест Струпа використовується як метод оцінювання емоційного стану обстежуваного на основі процесів обробки інформації. Аналогічно стандартному тесту Струпа ЕТС аналізує ЛП реакцій, проте не просто на колір написання, а й на емоційне забарвлення слів. Наприклад, тривалість ЛП реакцій обстежуваних буде збільшуватись на емоційно забарвлені слова порівняно з незмінною тривалістю ЛП на нейтральні. ЕТС за своїми механізмами, імовірно, дещо відрізняється від звичайного ефекту Струпа. У будь-якому випадку при виконанні ЕТС спостерігається взаємодія декількох потоків інформації. Ідея базується на тому, що емоційно значуща інформація довше обробляється в нейронних мережах, оскільки вона зачіпає значущі для організму стимули, на відміну від нейтральних. Уповільнення називання емоційно забарвленого слова порівняно з нейтральними словами вказує на зміщення ресурсів уваги на емоційно важливу інформацію [7]. Називання емоційно забарвлених слів потребує більше часу, ніж нейтральних. Такі дані були отримані в дослідженнях, у яких слова, пов'язані із суїцидом, пропонували обстежуваним, що намагалися вчинити самогубство; слова, пов'язані з павуками – людям з арахнофобією; слова, пов'язані з вагою, формою тіла чи їжею – пацієнтам з булемією. Вважали, що інтерференція, яка спостерігалась у цих дослідженнях, відображає певні специфічні домени емоційної інформації, що пов'язана із особистими проблемами пацієнтів. Проте було проведено дослідження з волейболістами та встановлено, що при пропонуванні їм слів, пов'язаних із волейболом (емоційно незабарвлених), також спостерігалась інтерференція, чого не було в неволейболістів. Отже, інтерференція може виникати, коли слово має певне значення для обстежуваного, але не обов'язково емоційно забарвлене [10].

На практиці психологам, соціальним працівникам, криміналістам, рекламодавцям тощо доводиться стикатись із необхідністю виявлення в певної особи прихованої, неусвідомлюваної або й завідомо неправдивої інформації. Для скринінгових, більш поверхневих обстежень (але швидших і дешевших щодо матеріальних затрат і лю-

дино-годин), доцільно використовувати методики із застосуванням комп'ютерних програм, які дозволяють попередньо виявити осіб, що реагують на важливу інформацію.

Метою пропонованої роботи стало застосування розробленого нами комп'ютеризованого (написаного під операційну систему Windows) ЕТС для перевірки його валідності. Семантичне поле "алкоголь", за яким тестувались обстежувані, було вибрано випадково. Припускалось, що молоді люди виявляють інтерес до алкогольних напоїв, тому такі подразники можуть викликати в них емоційні реакції. Новизна представленого в роботі дослідження полягає в підтвердженні валідності застосованого ЕТС для виявлення реакції обстежуваних на емоційно значущу інформацію, а також сильнішої емоційної реакції жінок порівняно з чоловіками на слова із семантичного поля "алкоголь", сильнішого виявлення ЕЕС на слова із зазначеного семантичного поля в жінок з першою групою крові (за системою АВО) порівняно із жінками з другою групою крові.

Об'єкт та методи досліджень. В обстеженні застосовано ЕТС, який був розроблений на кафедрі фізіології людини і тварин ННЦ "Інститут біології та медицини" КНУ імені Тараса Шевченка. У тесті подаються слова із семантичного поля "алкоголь", які мають емоційне навантаження (емоційні слова "горілка", "спирт", "келих" тощо) і загальноновживані (нейтральні). Нейтральних слів було 100, слова загальноновживані та складаються із 5 літер, емоційних – 20. Кількість літер у кожному слові коливається від чотирьох до шести, оскільки довжина слова може впливати на ЛП реакції [8]. Для більшої концентрації уваги обстежуваного та її відволікання від власне семантичної компоненти слова пред'являлись також гальмівні слова (20 слів), що складалися із 5 літер і були назвами рослин або тварин, які потрібно було ігнорувати [2]. На початку тесту проводилась тренувальна частина, яка складалась із 20 слів (нейтральних і гальмівних). Тест складався зі 160 слів, по 80 для кожної руки. Емоційно значущі, емоційно нейтральні й гальмівні слова подавались по центру екрана монітора комп'ютера. Перед початком тесту на екрані монітора з'являлась інструкція: "Для проходження тесту необхідно правильно і якнайш-

видше реагувати на пред'явлення: якщо колір слова зелений, то натиснути ліву клавішу CTRL, якщо червоний – праву; якщо це рослина або тварина – нічого не натискати". Задля посилення когнітивного навантаження застосовувались гальмівні подразники (назви рослин і тварин), які спонукали уважно читати слова. Використання гальмівного подразника і необхідність натискання різних клавіш залежно від кольору слова потребує значної уваги обстежуваного і не дає зосередитись на емоційному значенні слів. Було проведено обстеження 21 людини обох статей (студенти ННЦ "Інститут біології та медицини" віком від 18 до 23 років), 9 хлопців і 12 дівчат. Серед них 9 хлопців правші, 10 дівчат правші, 1 дівчина перенавчена шульга, 1 дівчина амбідекстер із домінуючою правою рукою. Час проходження тесту коливався в межах від 256 до 330 с. Обстеження проводили в кабінеті, у тиші. Людина сідала перед екраном монітора комп'ютера, слухала і читала інструкцію, а потім проходила тест. Під час обстеження не можна було розмовляти й відволікатися. Вимірювались ЛП сенсомоторних реакцій кожної руки і кількість помилок, допущених кожною рукою. У нашій роботі аналізувались ЛП реакцій. Методом анкетування в обстежуваних реєструвався показник групи крові за системою АВО.

Статистичний аналіз результатів проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (Statsoft, USA, 2001). Усі

величини ефектів, partial eta squared (η^2), були розраховані з використанням ANOVA. ЛП реакцій аналізувались 2*2 повторними вимірюваннями ANOVA з факторами "рука" (ліва/права), "тип стимулу" (емоційний/нейтральний), категорійними предикторами "стать" (жінки/чоловіки) і "група крові" (1(O)/2(A)/3(B)). Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймався рівним $p=0,05$.

Результати та їх обговорення. У групі загалом ЛП реакції виявились довшими для емоційних стимулів (796 мс) порівняно з нейтральними (758 мс), $F(1, 20)=8,16$, $p=0,0097$, $\eta^2= 0,289$ (рис. 1), що свідчить про адекватність застосованої методики для виявлення емоційно значущих стимулів, а отже, мета дослідження досягнута.

ЛП реакції лівої і правої рук не відрізнялись. Аналіз за категорійним предиктором "стать" (жінки/чоловіки) виявив лише відмінність ЛП емоційних стимулів від нейтральних.

Аналіз за категорійним предиктором "група крові" (1(O)/2(A)/3(B)) також виявив лише відмінність ЛП емоційних стимулів від нейтральних, але відмінності за показниками "група крові" і взаємодією показників "група крові" та "тип стимулу" (емоційний/нейтральний) наближались до рівня статистичної значущості ($p=0,095$ і $p=0,096$, відповідно), тому було побудовано ще дві моделі (аналіз ANOVA) окремо для підгруп чоловіків і жінок.

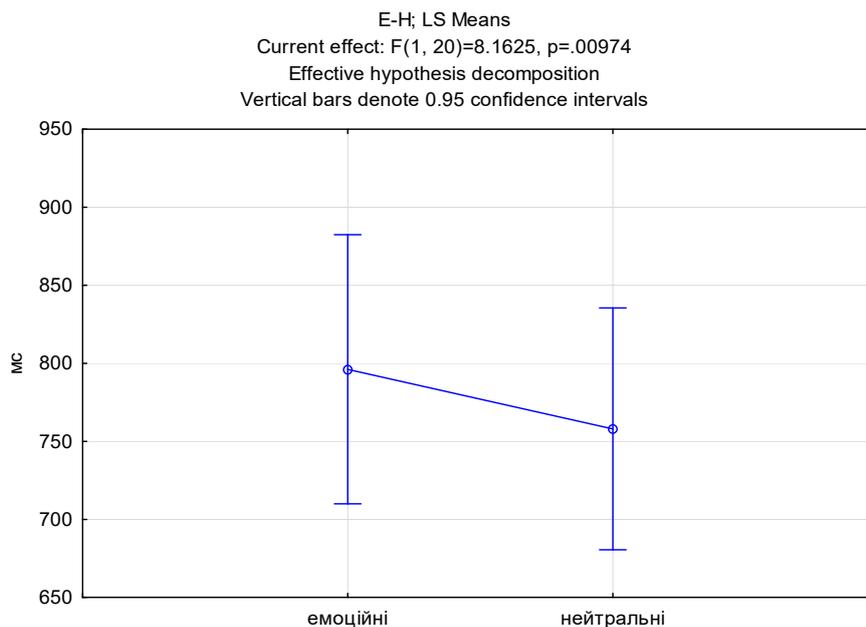


Рис. 1. Аналіз ANOVA латентних періодів реакції на нейтральні та емоційні слова по групі загалом ($n=21$)

Примітка: емоційні, нейтральні – тип стимулу.

У підгрупі жінок виявлено ефект взаємодії між показником "рука" (права/ліва), типом подразника (нейтральний/емоційний) та категорійним предиктором "група крові" (1(O)/2(A)/3(B)): $F(2, 8)=5.0897$, $p=0.03750$, $\eta^2=0,559$, який показує, що ЛП реакцій на емоційні та нейтральні стимули найдовші у жінок з першою групою крові, а найкоротші – у жінок з другою групою крові

(рис. 2). ЕЕС також найкраще виражений у жінок з першою групою крові, причому це виявляється в різниці ЛП реакції на нейтральні та емоційні слова для лівої руки, що свідчить про залучення до оброблення емоційної інформації правої півкулі й узгоджується з отриманими раніше результатами [1].

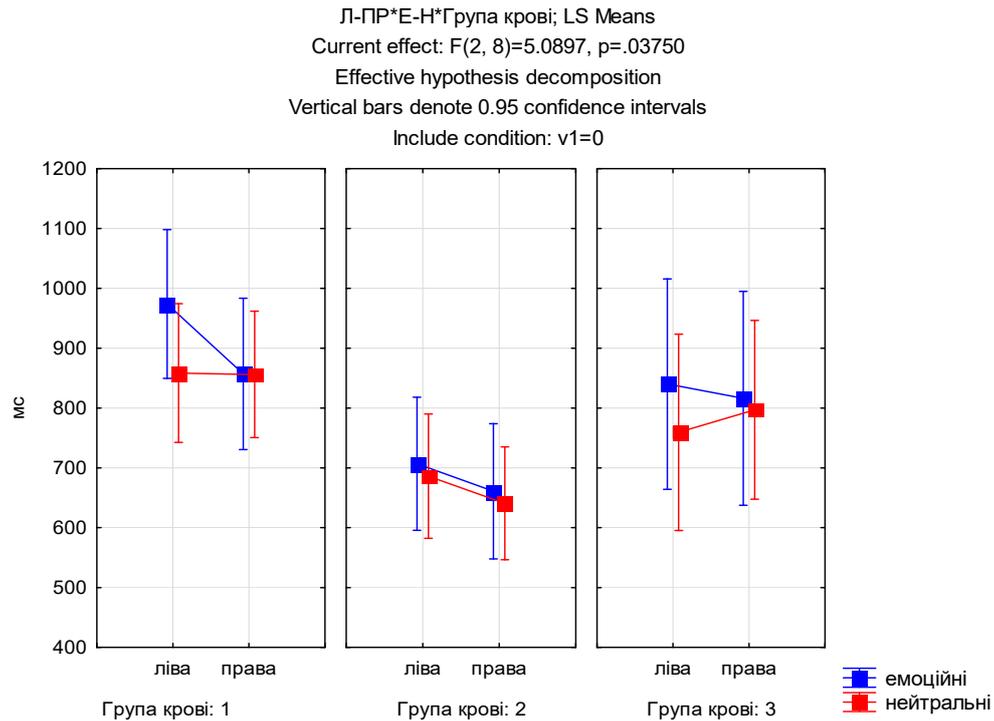


Рис. 2. Аналіз ANOVA латентних періодів реакції на нейтральні та емоційні слова у жінок (група крові 1(О), $n=4$; група крові 2(А), $n=5$; група крові 3(В), $n=2$). Ефект взаємодії факторів "рука" (ліва/права), "тип стимулу" (нейтральний/емоційний) з категорійним предиктором "група крові" (О/А/В)

У підгрупі чоловіків, на відміну від підгрупи жінок, не виявлено ефекту взаємодії між показниками "рука" (ліва/права), "тип стимулу" (нейтральний/емоційний) та категорійним предиктором "група крові" (1(О)/2(А)/3(В)): $F(2, 6)=0,21730$, $p=0,81076$, $\eta^2=0,067$ (рис. 3). Отже, для

чоловіків слова із семантичного поля "алкоголь" не виявились емоційно значущими такою самою мірою, як для жінок. Імовірно, тематика алкоголю не є для них чимось екстраординарним.

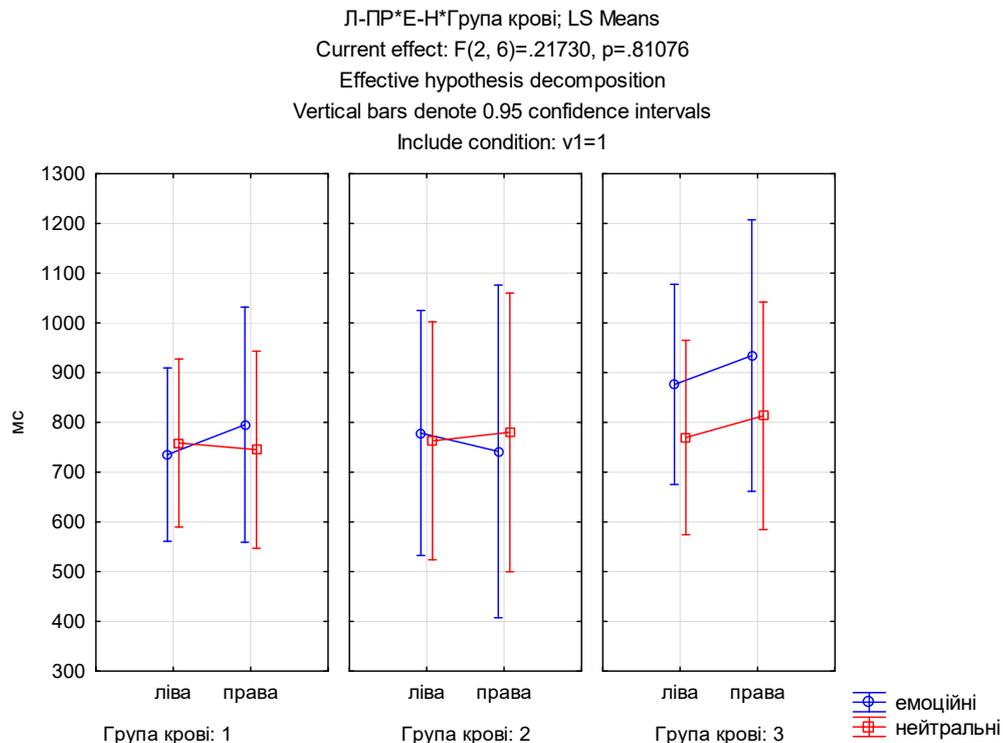


Рис. 3. Аналіз ANOVA латентних періодів реакції на нейтральні та емоційні слова у чоловіків (група крові 1 (О), $n=4$; група крові 2 (А), $n=2$; група крові 3 (В), $n=3$). Ефект взаємодії факторів "рука" (ліва/права), "тип стимулу" (нейтральний/емоційний) з категорійним предиктором "група крові" (О/А/В)

Ми не ставили за мету дослідження зв'язку між вживанням алкоголю і групами крові. Але, оскільки при анкетуванні обстежуваних ми збирали додаткову інформацію, зокрема й про групи крові, то вона була використана при обробленні результатів. Ми отримали "побічний ефект", після чого звернулись до пошуку наукових джерел про зв'язок між схильністю до алкоголю і групами крові. І хоча дослідження алкоголізму як однієї із найпоширеніших патологічних схильностей залишається надзвичайно актуальним [4], пік досліджень зв'язку між схильністю до алкоголю і групами крові припадає приблизно на 70-80-ті роки минулого століття. Виявляється, що в частині робіт було знайдено слабкий зв'язок між другою (А) групою крові та вищим показником алкоголізму. А в інших роботах показаний зв'язок між маркерами за іншими системами груп крові та схильністю до надмірного споживання алкоголю [6]. Отриманий нами результат узгоджується з даними про певну схильність осіб із другою групою крові до надмірного споживання алкоголю. Адже, за нашими результатами, жінки з другою групою крові не виявили емоційної реакції на слова із семантичного поля "алкоголь", оскільки в них не виявився ЕЕС, а ЛП реакцій на використані в тесті слова були найкоротшими. Отже, як і чоловіки, ці жінки не вбачали у словах із семантичного поля "алкоголь" нічого надзвичайного, тоді як жінки з першою групою крові виявили значну реакцію на такі слова. За даними літератури, саме в обстежуваних контрольній групі, на відміну від алкогольозалежних осіб, було виявлено сповільнення ЛП реакції на пов'язані з алкоголем слова при виконанні ЕТС [5]. За більш раннім дослідженням пов'язані з алкоголем слова викликали ЕЕС як у алкогольозалежних осіб, так і в обстежуваних контрольній групі [3]. Дослідження з використанням айтрекера показали, що в молодих осіб, які вживають алкоголь, порівняно з підлітками увага до пов'язаних із алкоголем подразників привертається швидше [9]. Головним обмеженням нашої роботи є маленька вибірка, тому, щоб робити більш впевнені висновки, потрібно провести масштабніше дослідження.

Висновки. По групі загалом ЛП реакції виявились довшими для емоційних стимулів порівняно з нейтральними, що свідчить про адекватність застосованої методики для виявлення емоційно значущих стимулів. ЛП реакцій на емоційні та нейтральні стимули найдовші в жінок з першою групою крові за системою АВО, а найкоротші – у жінок із другою групою крові. ЕЕС також найкраще виражений у жінок з першою групою крові, причому це виявляється в різниці ЛП реакції на нейтральні та емоційні слова для лівої руки, що свідчить про залучення до оброблення емоційної інформації правої півкулі. Для чоловіків слова із семантичного поля "алкоголь" не виявились емоційно значущими.

Список використаних джерел

1. Куценко Т. В. Міжпівкульні відмінності ЕЕГ дельта-бета поєднання у лівшів при виконанні емоційного тесту Струпа / Т. В. Куценко,

Т. Куценко, канд. биол. наук, доц.,

М. Вистизенко, студ.,

Д. Наседкин, мл. науч. сотруд.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ПРОЯВЛЕНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО ЭФФЕКТА СТРУПА У СТУДЕНТОВ ПРИ РЕАГИРОВАНИИ НА СЛОВА ИЗ СЕМАНТИЧЕСКОГО ПОЛЯ "АЛКОГОЛЬ"

На практике психологам, социальным работникам, криминалистам, рекламодателям и т. п. приходится сталкиваться с необходимостью выявления у определенного лица скрытой, неосознаваемой или заведомо ложной информации. Помочь в этом может эмоциональный тест Струпа (ЭТС), основанный на различиях в латентном периоде (ЛП) реакции (время реагирования) на эмоционально окрашенные и нейтральные слова. В статье исследовано использование эмоциональных слов из семантического поля "алкоголь" при прохождении студентами ЭТС. В обследовании приняли участие студенты в возрасте от 18 до 23 лет, 9 юношей и 12 девушек. Выявлен эмоциональный эффект Струпа (ЭЭС), а именно более длительное время реагирования на эмоционально окрашенные слова по сравнению с нейтральными, что подтверждает эффективность применения методики ЭТС для выявления скрытых склонностей обследу-

А. С. Лозовська // Вісник Черкаського університету. Серія: Біологічні науки. – 2014. – Вип. 2 (295). – С. 70-77.

2. Куценко Т. В. Вплив когнітивного навантаження на прояв емоційного ефекту Струпа / Т. В. Куценко // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. – 2020. – Вип. 1 (80). – С. 30-34.

3. Bauer D. Alcohol-related words are distracting to both alcohol abusers and non-abusers in the Stroop colour-naming task / D. Bauer, W. M. Cox // *Addiction*. – 1998. – 93(10). – P. 1539-42.

4. Cofresi R. U. Evidence for incentive salience sensitization as a pathway to alcohol use disorder / R. U. Cofresi, B. D. Bartholow, T. M. Piasecki // *Neurosci Biobehav Rev*. – 2019. – Vol. 107. – P. 897-926.

5. The individualized alcohol Stroop task: No attentional bias toward personalized stimuli in alcohol-dependents / C. Fridrici, C. Leichsenring-Driessen, M. Driessen et al. // *Psychol. Addict. Behav*. – 2013. – Vol. 27(1). – P. 62-70.

6. Blood groups and alcohol use / L. Gleibermann, H. Gershowitz, E. Harburg, S. Kuusinen // *Journal of Studies on Alcohol*. – 1981. – Vol. 42(7). – P. 557-563.

7. Hasenfratz M. Action profiles of smoking and caffeine: Stroop effect, EEG, and peripheral physiology / M. Hasenfratz, K. Battig // *Pharmacol Biochem Behav*. – 1992. – Vol. 42(1) – P. 155-61.

8. Larsen R. J. Lexical characteristics of words used in emotional Stroop experiments / R. J. Larsen, K. A. Mercer, D. A. Balota // *Emotion*. – 2006. – Vol. 6(1). – P. 62-72.

9. McAteer A. M. Age-related differences in alcohol attention bias: a cross-sectional study / A. M. McAteer, D. Hanna, D. Curran // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2018. – Vol. 235(8). – P. 2387-2393.

10. Williams J. M. G. The emotional Stroop task and Psychopathology / J. M. G. Williams, C. MacLeod, A. Mathews // *Psychological Bulletin*. – 1996. – Vol. 120. – № 1. – P. 3-24.

Reference (Scopus)

1. Kutsenko T., Lozovska A. Interhemispheric differences of EEG delta-beta coupling of left-handers under performance of emotional Stroop test. *Vistnyk Cherkas'kogo Universytetu (Bulletin of Cherkasy University. Biological Sciences Series)*. 2014;2(295):70-77.

2. Kutsenko T. Influence of cognitive load on the expression of the emotional Stroop effect. *Visnyk Kyivskogo universytetu, Biologija (The Bulletin of Kyiv University, Biology)*. 2020; 1(80): 30-34.

3. Bauer D., Cox W.M. Alcohol-related words are distracting to both alcohol abusers and non-abusers in the Stroop colour-naming task. *Addiction*. 1998; 93(10):1539-42.

4. Cofresi R.U. Bartholow B.D., Piasecki T.M. Evidence for incentive salience sensitization as a pathway to alcohol use disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019; 107:897-926.

5. Fridrici C., Leichsenring-Driessen C., Driessen M., Wingenfeld K., Kremer G., Beblo T. The individualized alcohol Stroop task: No attentional bias toward personalized stimuli in alcohol-dependents. *Psychol. Addict. Behav*. 2013; 27(1):62-70.

6. Gleibermann L., Gershowitz H., Harburg E., Kuusinen S. Blood groups and alcohol use. *Journal of Studies on Alcohol*. 1981;42(7):557-563.

7. Hasenfratz M., Battig K. Action profiles of smoking and caffeine: Stroop effect, EEG, and peripheral physiology. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992; 42(1):155-61.

8. Larsen R.J., Mercer K.A., Balota D.A. Lexical characteristics of words used in emotional Stroop experiments. *Emotion*. 2006;6(1):62-72.

9. McAteer A.M., Hanna D., Curran D. Age-related differences in alcohol attention bias: a cross-sectional study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2018; 235(8): 2387-2393.

10. Williams J.M.G., MacLeod C., Mathews A. The emotional Stroop task and Psychopathology. *Psychological Bulletin*. 1996; 120(1):3 – 24.

Надійшла до редколегії 28.09.2021

Отримано виправлений варіант 29.10.2021

Підписано до друку 29.10.2021

Received in the editorial 28.09.2021

Received version on 29.10.2021

Signed in the press on 29.10.2021

мого. ЭЭС сильнее проявился у женщин по сравнению с мужчинами, что, вероятно, может быть объяснено более частым употреблением алкоголя мужчинами, которые не видят в таких раздражителях ничего особенного. Интересной оказалась полученная связь между ЛП реакции на эмоциональные слова и группой крови (по системе АВО) у женщин. Женщины с первой группой крови имели более длинные ЛП реакций при выполнении ЭТС по сравнению с женщинами со второй группой крови, тогда как женщины с третьей группой крови имели промежуточные значения ЛП реакции. То есть, как и мужчины, женщины со второй группой крови не видели в словах из семантического поля "алкоголь" ничего особенного. У женщин с первой группой крови также наиболее сильно проявился ЭЭС в разнице ЛП реакции на нейтральные и эмоциональные слова для левой руки, что свидетельствует о привлечении к обработке эмоциональной информации правого полушария. Полученные результаты требуют дополнительных исследований, поскольку выборка была небольшой. Однако можно предположить, что склонность к употреблению алкоголя и эмоциональное реагирование на него связаны с группой крови и биохимическими особенностями организма, поэтому дальнейшие исследования в этом направлении перспективны.

Ключевые слова: эмоциональный эффект Струпа, латентный период реакции, алкоголь, группа крови.

T. Kutsenko, PHD,
M. Vistyzenko, stud.,
D. Nasedkin, junior researcher
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

MANIFESTATION OF THE EMOTIONAL STROOP EFFECT IN STUDENTS WHEN RESPONDING TO WORDS FROM THE SEMANTIC FIELD OF "ALCOHOL"

In practice, psychologists, social workers, forensic scientists, advertisers, etc. have to face the need to reveal hidden, unconscious or knowingly false information from a certain person. The use of the emotional Stroop test (EST), which is based on differences in the latent period (LP) of the reaction (response time) to emotionally colored and neutral words, can help. As a model, emotional words from the semantic field of "alcohol" were used during the EST passage by students. The survey involved students aged 18 to 23, 9 boys and 12 girls. The emotional Stroop effect (ESE) was revealed, namely a longer response time to emotionally colored words compared to neutral ones, which confirms the effectiveness of the EST technique to identify hidden tendencies of the subject. ESE is more pronounced in women than in men, which can probably be explained by more frequent alcohol consumption by men who do not see anything special in such stimuli. The connection between the LP reaction to emotional words and blood groups (according to the ABO system) in women was interesting. Women with the first blood group had longer LP reactions when performing EST compared with women with the second blood group, while women with the third blood group had intermediate values of the LP reaction. That is, like men, women with the second blood group did not see anything extraordinary in words from the semantic field of "alcohol". In women with the first blood group, the ESE was the highest and had the strongest difference between the reaction to neutral and emotional words for the left hand, which indicates the involvement of the right hemisphere in the processing of emotional information. The results obtained require additional research, as the sample was small. However, it can be assumed that the predisposition to alcohol consumption and emotional response to it is associated with blood type and biochemical characteristics of the organism, so further research in this area is promising.

Keywords: emotional Stroop effect, latent period of reaction, alcohol, blood group.

UDK 578

DOI 10.17721/1728.2748.2021.87.56-61

A. Ponomarenko, stud.,
H. Korotieieva, PhD,
I. Budzanivska, Dr Sci.,
T. Shevchenko, Dr Sci.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF CYMBIDIUM MOSAIC AND ODONTOGLOSSUM RINGSPOT VIRUSES ISOLATED FROM *PHALAEOPSIS* SP.

Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus are the most common and widespread viruses in ornamental orchids. Infections caused by these viruses can lead to a decrease in the phenotypic diversity of orchid collections, and as a result – to their complete depletion. The aim of the study is to determine the origin of Ukrainian isolates of orchid viruses in the collection of protected soil from O.V. Fomin Botanical Garden of Taras Shevchenko National University of Kyiv. The properties of nucleotide and amino acid sequences of the coat proteins (CP) of Cymbidium mosaic virus (CymMV) and of Odontoglossum ringspot virus (ORSV) were investigated. RNAs of CymMV and ORSV were isolated from leaves of Phalaenopsis sp. collected from A.V. Fomin Botanical Garden of Taras Shevchenko National University of Kyiv, amplified through RT-PCR and sequenced. Obtained sequences were compared at nucleotide and amino acid levels with CymMV and ORSV isolates available in the GenBank. ORSV isolated in Ukraine shared 96-99 % and 93,4-98 % CP similarity to other known ORSV isolates at nucleotide and amino acid levels, respectively. CymMV isolated in Ukraine revealed approximately 77-97 % similarity for nucleotide sequences and 84-100 % for amino acid sequences to isolates from the GenBank. Phylogenetic analysis showed that studied ORSV and CymMV isolates may have common origin with some South Korean isolates.

Keywords: orchids, CymMV, ORSV, RT-PCR, phylogenetic analysis.

Introduction. Tropical and subtropical species of orchids are cultivated in many countries and remain one of the most important commercial crops in the world's floral industry. Viral diseases of orchids are known from the middle of XX century. These may significantly affect the quality of ornamental flowers, and, consequently, decrease their commercial and esthetical value. Currently, about 50 viruses infecting orchids has been described [1, 2]. Among them, Cymbidium mosaic virus (CymMV, Potexvirus) and Odontoglossum ringspot virus (ORSV, Tobamovirus) are the most prevalent [3, 4], as they can be transmitted rapidly, contributing to a significant spread among susceptible plants [5]. These viruses are transmitted exclusively in artificial ecosystems, mainly during vegetative propagation or mechanically. Viral infections affect physiological state of orchids grown in greenhouses [5]. Causing a loss of flowers' ornamentation, they can have negative impacts on developing of commercial floriculture [6, 7, 8].

In Ukraine, tropical orchids are mostly grown in greenhouses in the collections of botanical gardens. Cases of CymMV and ORSV infection among tropical orchids in the collections of botanical gardens of Ukraine have been known previously [9, 10], but phylogenetic analysis of detected CymMV and ORSV isolates have not been carried out.

The aim of the study is to determine the origin of Ukrainian isolates of orchid viruses in the collection of protected soil from O.V. Fomin Botanical Garden of Taras Shevchenko National University of Kyiv.

Materials and Methods. To investigate the molecular properties of CymMV and ORSV isolated in Ukraine, samples of *Phalaenopsis* sp. were collected from A.V. Fomin Botanical Garden of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Virus identification was carried out using DAS-ELISA with polyclonal antisera specific to CymMV and ORSV (Prime Diagnostics, The Netherlands).

Total RNA was extracted using RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany).

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was accomplished using SuperScript II kit (Invitrogen, USA). To amplify coat protein (CP) gene of CymMV and ORSV, duplex RT-PCR was used in one reaction tube with the two pairs of primers: CymMV-F – 5'-ACAATAATTT-GAAATAATCATGGGA-3', CymMV-R – 5'-AAAACCACAC-GCCTTATTAAGTTTG-3' (expected product size 716 bp); ORSV-F – 5'-ACGCACAATCTGATTCGTATTGAA-3', ORSV-R – 5'-TATCAACGTTATTTTCCTAAATAT-3' (expected product size 528 bp) [11].

The amplified products from *Phalaenopsis* sp. samples were purified using MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen, Great Britain). Resulting PCR products were sequenced using Applied Biosystems 3730x1 DNA Analyzer using Big Dye terminators, version 3.1 (Applied Biosystems, USA).

Phylogenetic analysis was carried out using MEGA 9 software.

Results and Discussion. Orchid plants from collection of A.V. Fomin Botanical Garden of Taras Shevchenko National University of Kyiv with symptoms of mosaic, spots, necrosis and chlorosis have been detected. Symptoms of mosaic on the leaves were an alternation of light and dark green areas, which formed a mosaic pattern. Symptoms of necrotic or annular spotting are the formation of small (0.5–2 mm) and medium-sized (2–4 mm) black necrosis of round and oval shape on the leaf blade, sometimes surrounded by a narrow border (Fig. 1). A fairly common symptom was yellowing of the leaf blade in combination with the formation of marginal leaf necrosis. Symptoms of mosaic, yellowing and ring necrosis can occur on plants under the influence of CymMV and ORSV [12, 13, 14].

CymMV and ORSV were detected by ELISA with appropriate antisera in all selected samples of orchid plants. It should be noted that mixed infection with CymMV + ORSV was detected in plants of *Phalaenopsis* sp.

Further leaves of *Phalaenopsis* sp. with the symptoms typical of CymMV and ORSV infection (Fig. 1) confirmed by DAS-ELISA were used for total RNA extraction.



Fig. 1. Leaf of *Phalaenopsis sp.* with symptoms of chlorosis and necrosis

The total RNA was amplified in RT-PCR. Agarose gel electrophoresis revealed the presence of expected amplified products with corresponding molecular weight (Fig. 2).

Gene sequence of Ukrainian ORSV isolate (ORSV-PHA-Ukr) were compared with another known isolates of ORSV available from the GenBank. For this study, we used published 32 full-genomic sequences of ORSV.

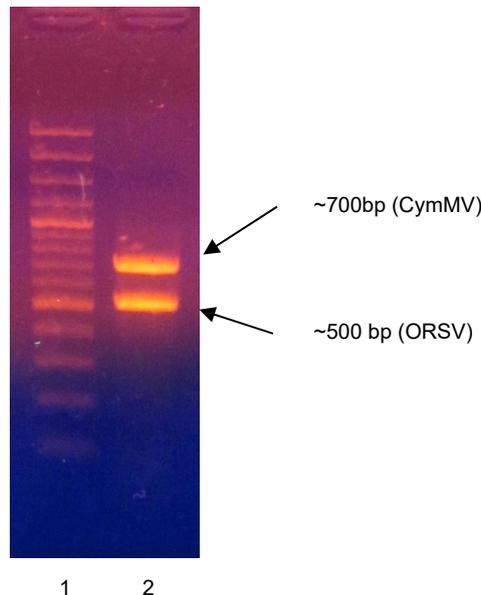


Fig. 2. Electrophoretic separation of RT-PCR products in agarose gel: 1 – DNA ladder (100 bp, Fermentas), 2 – products of amplification (arrows indicate cDNAs of CymMV and ORSV CPs)

The nucleotide and amino acid sequences of the CP gene/protein of ORSV-PHA-Ukr shared, respectively, 96-99 % and 93,4-98 % similarity with the other ORSV isolates. Our results are in line with literature data stating high homology of ORSV isolates [15, 16].

Since full genomic sequences of ORSV isolates were used for the analysis, we were able to compare CP gene sequence of ORSV-PHA-Ukr with that of other isolates (Table 1).

Table 1. Comparison of partial nucleotide and amino acid sequences of ORSV isolated in Ukraine with other virus isolates available from the GenBank

GenBank isolates	CP sequence	
	Nucleotide sequence, %	Amino acid, %
ORSV-SW8/Cymbidium (Australia)	98,7	97,4
ORSV-Taiwan-1 (Taiwan)	99,2	98,7
ORSV-Taiwan-2(Taiwan)	98,3	98,1
ORSV-Cy-1 (Japan)	98,7	98,1
ORSV-Cymbidium (USA)	99,2	98,7
ORSV-CR (USA)	99,2	98,7
ORSV-S1 (Singapore)	98,9	98,7
ORSV (Korea)	97,4	94,8

As shown in Table 1, the degree of CP gene similarity of ORSV-PHA-Ukr in comparison with other ORSV isolates from GenBank is quite high. This demonstrates high level of conservancy of ORSV genome (or at least its CP gene).

To determine possible origin of ORSV isolate sampled in Ukraine, phylogenetic analysis based on its amino acid sequence was conducted. Maximum Likelihood method was

chosen as a discrete method, which was performed using Poisson model. As can be seen from the resulting phylogenetic tree (Fig. 3), ORSV-PHA-Ukr isolate and one of the isolates from the South Korea were clustered together suggesting their possible common origin.

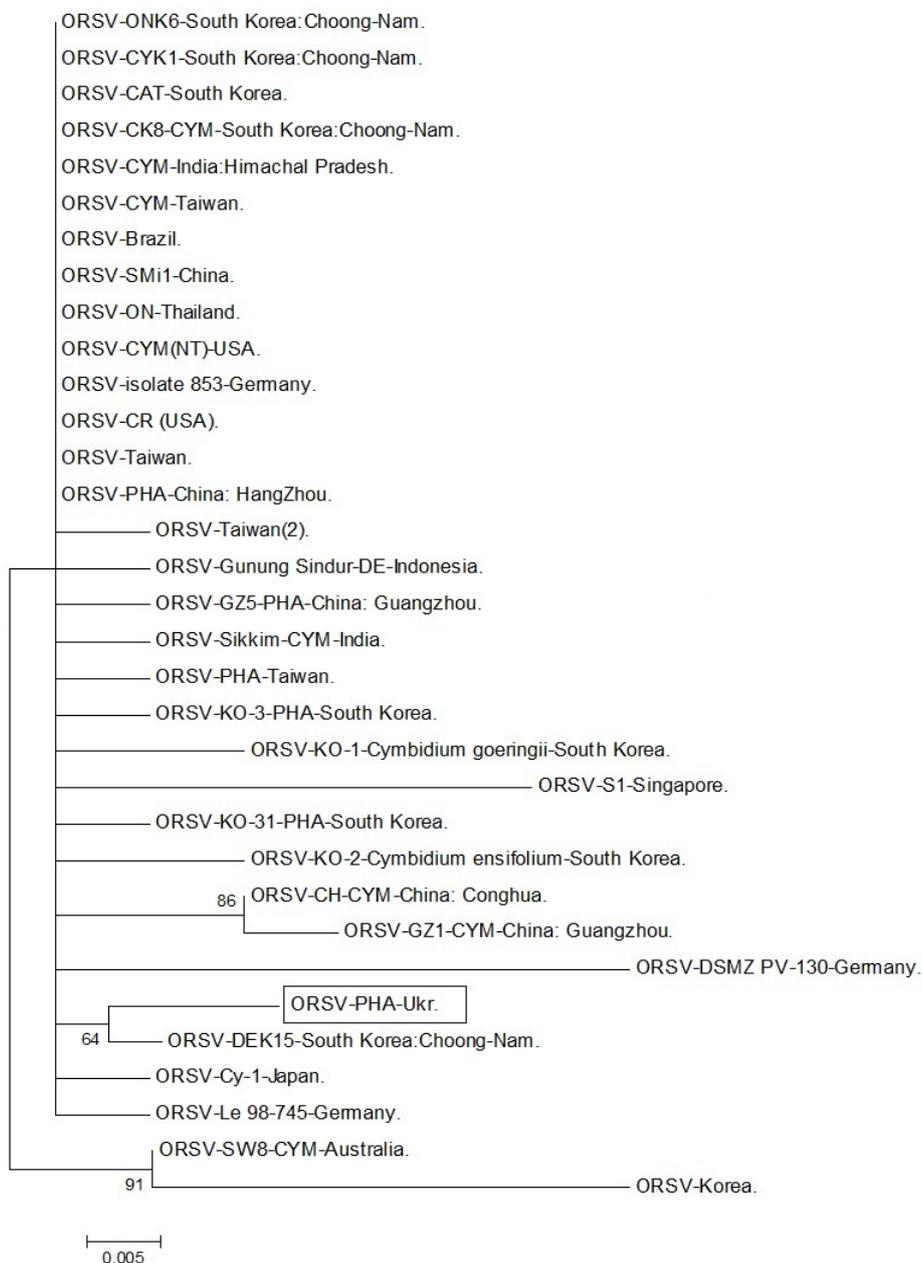


Fig. 3. Phylogenetic analysis of Ukrainian ORSV isolate based on amino acid sequence of coat protein. Phylogenetic tree (50 % majority rule consensus tree) is constructed using ML method (Poisson model, bootstrap 1000 replications)

The obtained nucleotide sequence of CP gene of CymMV isolated in Ukraine (CymMV-PHA-Ukr) was pairwise compared with the other 33 CymMV isolates from the GenBank. Basing on the mutations in monomorphic sites, CymMV isolates can be divided into two monophyletic clusters at the nucleotide level – subgroup A and subgroup B [17]. According to our data and basing on the nucleotide sequence, CymMV-PHA-Ukr isolate belongs to subgroup A and shares 88-97 % similarity with other CymMV isolates

from subgroup A and 77-87 % with the CymMV isolates from subgroup B. The deduced amino acid sequence of CymMV-PHA-Ukr shared 84-100 % similarity with other CymMV isolates.

For the further research of CymMV-PHA-Ukr phylogenetic tree of nucleotide sequence was constructed using ML method. As shown on Fig. 4, CymMV isolate sampled in Ukraine may have common origin with some isolates from the South Korea.

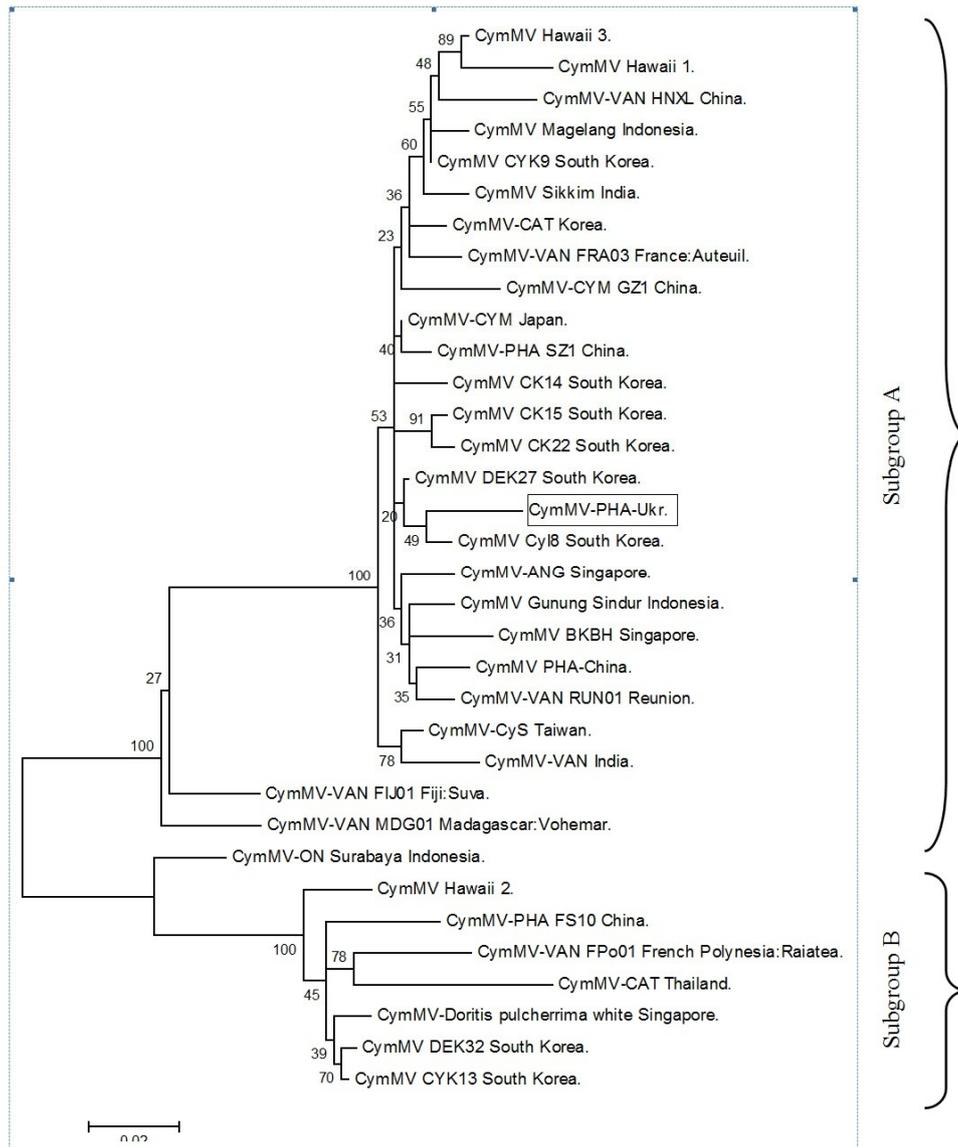


Fig. 4. Phylogenetic analysis of Ukrainian CymMV isolate based on nucleotide sequence of coat protein gene. The tree is constructed using ML method (Kimura 2-parameter model, bootstrap 1000 replications)

In conclusion, it was established that ORSV isolate collected from *Phalaenopsis* sp. in Ukraine shared high homology at the nucleotide and amino acid levels with other known ORSV isolates basing on CP gene/protein sequence. CymMV isolate sampled from orchids in Ukraine showed 77-97 % similarity to the virus isolates available from the GenBank. Isolates of both viruses (ORSV-PHA-Ukr and CymMV-PHA-Ukr) supposedly have common ancestors with the ORSV and CymMV isolates from the South Korea. Since the plants from tropical orchids' collections in botanical gardens in Ukraine were originally imported from eastern countries, we suggest that ORSV and CymMV may have invaded orchid collections with imported plant material, with subsequent spread in Ukraine.

Acknowledgments. We thank O. Peregudova for assistance in obtaining data for the study.

References

1. Viruses of orchids and their control / F. W. Zettler, G. C. Wistler, M. S. Elliot et al. // *Plant. Disease*. – 1990. – Vol. 74. – P. 621-626.

2. Lee Ch.-Hw. The Orchid-Infecting Viruses Found in the 21st Century [Electronic resource] / Ch.-Hw. Lee, Y.-X. Zheng, F.-J. Jan // *Orchid Biotechnology* III. – 2017. – P. 145-164. – Available from : https://doi.org/10.1142/9789813109223_0009

3. Bratsch S. A. Incidence of cymbidium mosaic, odontoglossum ring-spot, and orchid fleck virus in orchids in Minnesota and production of antibodies for use in ELISA to detect orchid fleck virus / S. A. Bratsch, N. Olszewski, B. Lockhart // *European Journal of Plant Pathology*. – 2021. – Vol. 159, № 3. – P. 543-554.

4. First Report of Orchid Fleck Virus Associated with Citrus Leprosis Symptoms in Rough Lemon (*Citrus jambhiri*) and Mandarin (*C. reticulata*) the United States [Electronic resource] / A. Olmedo-Velarde, A. Roy, Ch. Padmanabhan et al. // *Plant Disease*, Sep. – 2021. – Available from : <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2736-PDN>

5. Cánovas S. E. First report of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ring spot virus in Argentina [Electronic resource] / S. E. Cánovas, M. C. Ballari, C. F. Nome // *Australasian Plant Dis. Notes*. – 2016. – Vol. 11, № 2. – Available from : <http://dx.doi.org/10.1007/s13314-015-0189-7>.

6. Lopez-Hernandez M. S. Detection of Cymbidium mosaic virus (CymMV) and Odontoglossum ringspot virus (ORSV) from orchids in Mexico [Electronic resource] / M. S. Lopes-Hernandez, P. E. Palacios-Popo, R. De La Torre-Almaraz // *Agrociencia* [online]. – 2014. – Vol. 48, № 5. – P. 525-536. – Available from : <https://www.redalyc.org/pdf/302/30232500006.pdf>

7. Production of virus-free orchid *Cymbidium alofolium* (L.) Sw. by various tissue culture techniques [Electronic resource] / Sh. Pradhan, T. Regmi, M. Ranjit, B. Pant // *Heliyon*. – 2016. – Vol. 2, № 10. – Article № e00176. – Available from : <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00176>.

8. Chung B.-N. Viral infection of tissue cultured orchids and evaluation of damages / B.-N. Chung, J.-Y. Yoon, M. S. Kim // *Plant. Pathol. J.* – 2010. – Vol. 26, № 2. – P. 194-197.
9. Korotieva H. V. [Viral diseases in the orchid collection of Academician O.V. Fomin Botanical Gardens of Taras Shevchenko Kyiv National University] / H. V. Korotieva, V. P. Polischuk // *Scientific Notes of NaUKMA.* – 2001. – Vol. 19, Part 2. – P. 399-400.
10. Spreading of virus infection in the orchid collection in Ukraine / V. Polischuk, G. Koroteyeva, A. Bysov, A. Lavrentieva // *Plant science.* – Sofia, 2007. – Vol. XLIV, № 3. – P. 213-216.
11. Rapid detection of cymbidium mosaic virus by the polymerase chain reaction (PCR) / S. T. Lim, S. M. Wong, C. Y. Yeong et al. // *J. Virol Methods.* – 1993. – Vol. 41, № 1. – P. 37-46.
12. Pearson M. N. Further Observations on the Effects of Cymbidium Mosaic Virus and Odontoglossum Ringspot Virus on the Growth of Cymbidium Orchids [Electronic resource] / M. N. Pearson, J. S. Cole // *Journal of Phytopathology.* – Vol. 131, № 3. – P. 193-198. – Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1991.tb01187.x>
13. RT-PCR detection of Odontoglossum ringspot virus, Cymbidium mosaic virus and Tospoviruses and association of infections with leaf-yellowing symptoms in Phalaenopsis [Electronic resource] / K. Yamane, K. Oyama, E. Iuchi et al. // *Journal of Phytopathology.* – 2008. – Vol. 156. – P. 268–273. – Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01352.x>
14. Hu J. S. Detection of Cymbidium Mosaic Virus, Odontoglossum Ringspot Virus, Tomato Spotted Wilt Virus, and Potyviruses Infecting Orchids in Hawaii [Electronic resource] / J. S. Hu, S. Ferreira, M. Q. Xu // *Department of Plant Pathology.* – University of Hawaii, 1993. – P. 464-468. – Available from: https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1993Articles/PlantDisease77n05_464.PDF
15. Yoon J.-Y. High sequence conservation among Odontoglossum ringspot virus isolates from orchids / J.-Y. Yoon, B.-N. Chung, S.-K. Choi // *Virus Genes.* – 2011. – Vol. 42, № 2. – P. 261-267.
16. The complete sequence of a Singapore isolate of odontoglossum ringspot virus and comparison with other tobamoviruses / C. G. Chng, S. M. Wong, P. H. Mahtani et al. // *Gene.* – 1996. – Vol. 171, № 2. – P. 155-161.
17. Evidence that Cymbidium mosaic virus (CymMV) isolates divide into two subgroups based on nucleotide diversity of coat protein and replicase genes / M. Moles, H. Delatte, K. Farreyrol et al. // *Arch. Virol.* – 2007. – Vol. 152. – P. 705-715.

References (Scopus)

1. Zettler FW, Wistler GC, Elliot MS, Ko N-J. Viruses of orchids and their control, *Plant. Disease*; 1990; 74: 621-626.
2. Chia-Hwa Lee, You-Xiu Zheng, and Fuh-Jyh Jan The Orchid-Infecting Viruses Found in the 21st Century Orchid Biotechnology III. March 2017; 145-164 :https://doi.org/10.1142/9789813109223_0009
3. Bratsch SA, Olszewski N, Lockhart B. Incidence of cymbidium mosaic, odontoglossum ringspot, and orchid fleck virus in orchids in Minnesota and production of antibodies for use in ELISA to detect orchid fleck virus. *European Journal of Plant Pathology.* 2021; 159 (3): 543-554.
4. Olmedo-Velarde A, Roy A, Padmanabhan Ch, Nunziata S., Nakhla MK and Melzer MJ First Report of Orchid Fleck Virus Associated with Citrus Leprosis Symptoms in Rough Lemon (*Citrus jambhiri*) and Mandarin (*C. reticulata*) the United States. *Plant Disease.* Sep. 2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2736-PDN>

A. Пономаренко, студ.,
 Г. Коротєєва, канд. біол. наук,
 І. Будзанівська, д-р біол. наук,
 Т. Шевченко, д-р біол. наук
 Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ФІЛОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ІЗОЛЯТІВ ВІРУСІВ МОЗАЇКИ ЦИМБІДИУМУ ТА КІЛЬЦЕВОЇ ПЛЯМИСТОСТІ ОДОНТОГЛОСУМУ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ОРХІДНИХ PHALAENOPSIS SP.

Віруси мозаїки цимбідіуму та кільцевої плямистості одонтогłosуму є найбільш патогенними та широко поширеними вірусами в колекціях декоративних орхідних. Інфекції, спричинені цими вірусами, можуть призвести до зниження видового різноманіття колекцій і, як наслідок, їх повного виснаження. Метою дослідження було визначення походження українських ізолятів вірусів орхідних у колекції захищеного ґрунту Ботанічного саду імені О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Вивчено нуклеотидні та амінокислотні послідовності гена капсидного білка (CP) вірусу мозаїки цимбідіуму (СутMV) та CP вірусу кільцевої плямистості одонтогłosуму (ORSV). Ці послідовності були отримані в результаті ампліфікації і секвенування РНК СутMV та ORSV, виділених із інфікованих рослин Phalaenopsis sp. колекції захищеного ґрунту Ботанічного саду ім. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Отримані секвенси порівнювали з послідовностями відомих ізолятів СутMV та ORSV із ГенБанку. Було встановлено, що досліджувані ізоляти ORSV має подібність з іншими ізолятами 96–99 % та 93,4–98 % для CP на нуклеотидному й амінокислотному рівнях, відповідно. Виділений ізолят СутMV має ступінь подібності з іншими ізолятами СутMV 77–97 % для нуклеотидних та 84–100 % – для амінокислотних послідовностей. Побудоване філогенетичне дерево показало, що обидва досліджувані віруси, СутMV та ORSV, мають спільне походження з деякими корейськими ізолятами.

Ключові слова: орхідні, СутMV, ORSV, ЗТ-ПЛР, філогенетичний аналіз.

5. Cánovas SE, Ballari MC and Nome CF. First report of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ring spot virus in Argentina. *Australasian Plant Dis. Notes.* 2016. 11: 2. <http://dx.doi.org/10.1007/s13314-015-0189-7>.

6. Lopez-Hernandez MS, PALACIOS-POPO P.E., DE LA TORRE-ALMARAZ R [Detection of Cymbidium mosaic virus (CymMV) and Odontoglossum ringspot virus (ORSV) from orchids in Mexico]. *Agrociencia [online].* 2014, vol.48, n.5, pp.525-536. ISSN 2521-9766.

7. Pradhan Sh, Regmi T, Ranjit M, Pant B, Production of virus-free orchid Cymbidium alofolium (L.) Sw. by various tissue culture techniques, *Heliyon, Volume 2, Issue 10, 2016, e00176, ISSN 2405-8440, https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00176.*

8. Chung B-N, Yoon J.-Y., Kim MS. Viral infection of tissue cultured orchids and evaluation of damages, *Plant. Pathol. J.*, 2010; 26(2); 194-197.

9. Korotieva HV, Polischuk VP. [Viral diseases in the orchid collection of Academician O.V. Fomin Botanical Gardens of Taras Shevchenko Kyiv National University] [*Scientific Notes of NaUKMA.*]. 2001;19,(2): 399-400. Ukrainian

10. Polischuk V, Koroteyeva G, Bysov A, Lavrentieva A Spreading of virus infection in the orchid collection in Ukraine. *Plant science. Sofia.* 2007; XLIV (3). : 213-216.

11. Lim S.T., Wong S.M., Yeong C.Y., Lee S.C., Goh C.J. Rapid detection of cymbidium mosaic virus by the polymerase chain reaction (PCR). *J Virol Methods.* 1993 Jan; 41(1):37-46. doi: 10.1016/0166-0934(93)90161-j. PMID: 8432762.

12. Pearson MN., Cole JS Further Observations on the Effects of Cymbidium Mosaic Virus and Odontoglossum Ringspot Virus on the Growth of Cymbidium Orchids. *Journal of Phytopathology*, 2008; 31 (3):193-198. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1991.tb01187.x>

13. Yamane K, Oyama K, Iuchi E, Ogawa H, Suzuki T and Natsuaki T. RT-PCR Detection of Odontoglossum ringspot virus, Cymbidium mosaic virus and Tospoviruses and Association of Infections with Leaf-Yellowing symptoms in Phalaenopsis. *Journal of Phytopathology* 2008; 156: 268–273. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01352.x>

14. Hu JS, Ferreira S, Xu MQ, Detection of Cymbidium Mosaic Virus, Odontoglossum Ringspot Virus, Tomato Spotted Wilt Virus, and Potyviruses Infecting Orchids in Hawaii, Department of Plant Pathology. 1993:464-468. https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1993Articles/PlantDisease77n05_464.PDF

15. Yoon JY, Chung BN, Choi SK. High sequence conservation among Odontoglossum ringspot virus isolates from orchids, *Virus Genes*, 2011; 42(2): 261-267.

16. Chng CG, Wong S M, Mahtani P H, Loh C S, Goh C J, Kao M C, Chung M C, Watanabe Y. The complete sequence of a Singapore isolate of odontoglossum ringspot virus and comparison with other tobamoviruses. *Gene*, 1996; 171: 155–161

17. Moles M, Delatte H, Farreyrol K, Grisoni M. Evidence that Cymbidium mosaic virus (CymMV) isolates divide into two subgroups based on nucleotide diversity of coat protein and replicase genes, *Arch. Virol*, 2007; 152: 705-715.

Надійшла до редколегії 04.10.2021
 Отримано виправлений варіант 05.11.2021
 Підписано до друку 05.11.2021

Received in the editorial 04.10.2021
 Received version on 05.11.2021
 Signed in the press on 05.11.2021

А. Пономаренко, студ.,
А. Коротеева, канд. биол. наук,
И. Будзанивская, д-р биол. наук,
Т. Шевченко, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИРУСОВ МОЗАИКИ ЦИМБИДИУМА И КОЛЬЦЕВОЙ ПЯТНИСТОСТИ ОДОНТОГЛОССУМА, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОРХИДНЫХ *PHALAENOPSIS* SP.

Вирусы мозаики цимбидиума и кольцевой пятнистости одонтоглоссума являются наиболее патогенными и широко распространенными вирусами в коллекциях декоративных орхидных. Инфекции, вызванные этими вирусами, могут привести к снижению видового разнообразия коллекций и, как следствие, их полному истощению. Целью исследования было определение происхождения украинских изолятов вирусов орхидных в коллекции защищенного грунта Ботанического сада имени А. В. Фомина Киевского национального университета имени Тараса Шевченко. Было проведено исследование нуклеотидных и аминокислотных последовательностей гена капсидного белка (СР) вируса мозаики цимбидиума (СутMV), а также СР вируса кольцевой пятнистости одонтоглоссума (ORSV). Данные последовательности были получены в результате амплификации и сиквенирования РНК СутMV и ORSV, выделенных из растений *Phalaenopsis* sp. коллекции Ботанического сада им. А. В. Фомина Киевского национального университета имени Тараса Шевченко. Полученные сиквенсы сравнивали с последовательностями других известных изолятов СутMV и ORSV из ГенБанка. Было показано, что исследуемый изолят ORSV имеет подобие с другими изолятами 96–99 % и 93,4–98 % для гена СР на нуклеотидном и аминокислотном уровнях, соответственно. Выделенный изолят СутMV был подобен другим изолятам СутMV на 77–97 % для нуклеотидных и на 84–100 % – для аминокислотных последовательностей. Построенное филогенетическое дерево показало, что исследуемые вирусы, СутMV и ORSV, имеют общее происхождение с некоторыми корейскими изолятами.

Ключевые слова: орхидные, СутMV, ORSV, ОТ-ПЦР, филогенетический анализ.

Наукове видання



ВІСНИК
КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуск 4 (87)

Редактор *Н. Земляна*

Оригінал-макет виготовлено ВПЦ "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, статистичних даних, відповідної галузевої термінології, імен власних та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали.



Формат 60x84^{1/8}. Ум. друк. арк. 7,2. Наклад 300. Зам. № 221-10333.
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б 4.
Підписано до друку 25.11.21

Видавець і виготовлювач
ВПЦ "Київський університет"
Б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; тел./факс (38044) 239 31 28
e-mail: vpc_div.chief@univ.net.ua; redaktor@univ.net.ua
http: vpc.univ.kiev.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02