

Подано експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводяться науковцями біологічного факультету в галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено також нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі й після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів, наведено результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів та студентів.

Collection of articles written by the scientists of biological faculty 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	Л.В. Дробінська, канд. біол. наук (відп. секр.); І.В. Якубцова (техн. секр.); В.М. Войціцький, д-р біол. наук, проф.; С.В. Демидов, д-р біол. наук, проф.; М.Е. Держинський, д-р біол. наук, проф.; М.С. Мірошніченко, д-р біол. наук, проф.; М.М. Мусієнко, д-р біол. наук, проф., чл.-кор. УААН; В.К. Позур, д-р біол. наук, проф.; І.Ю. Костіков, д-р біол. наук, доц.; В.В. Серебряков, д-р біол. наук, проф.; М.Ю. Макарчук, д-р біол. наук, проф.; В.П. Поліщук, д-р біол. наук, проф.
Адреса редколегії	01033, Київ-33, просп. акад. Глушкова, 2, корп. 12, біологічний факультет; ☎ (38044) 266 93 67
Затверджено	Вченою радою біологічного факультету 10.12.07 (протокол № 5)
Атестовано	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/7 від 9.06.99
Зареєстровано	Міністерством інформації України. Свідоцтво про державну реєстрацію КІ № 251 від 31.10.97
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	01601, Київ-601, б-р Т.Шевченка, 14, кімн. 43; ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 58

Раєцька Я., Остапченко Л. Визначення активності аденілатциклази, гуанілатциклази та фосфодіестерази циклічних нуклеотидів у тканинах селезінки, тимусу, пухлини щурів до і після опромінення	6
Богданова О., Кузьменко Л., Дробінська О., Остапченко Л. Участь системи синтази оксиду азоту в розвитку та відновленні стрес-індукованих уражень слизової оболонки шлунка	7
Можеїтова О., Мороз О., Цапенко П., Лященко Т. Жовчосекреторна функція печінки щурів при дії простагландину F _{2α}	10
Прокопов В., Кузьменко Л., Богданова О., Прокопова К. 2',5'-олігоаденілатсинтетазна активність в лімфоїдних клітинах при експериментальній виразці шлунка	12
Вороніна О., Гришук В., Дзержинський М. Ультроструктурний аналіз клітин слизової оболонки фундального відділу шлунка щурів при гіпергастринемії	13
Мякушко С., Степаненко М. Вікові особливості розміру виводка двох видів лісових гризунів	15
Лещенко П., Новікова І., Паршикова Т., Посудін І. Рухливість клітин <i>Euglena gracilis</i> Klebs. на різних стадіях розвитку в присутності шестивалентного хрому	17
Проніна О., Безруков В. Вплив ультрафіолету різного спектрального складу на дріжджі <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
Голенко А., Дзеверін І., Мякушко С. Особливості живлення та зимівлі кожана пізнього (<i>Eptesicus serotinus</i>) у лабораторних умовах протягом року	22
Семчук Л., Ромашев С., Андрійчук О., Ігнатенко Т. Вивчення екологічної ролі природних ізолятів фагів фітопатогенних бактерій в агроценозах	25
Потебня Г., Трохименко Н., Позур В. Способи підвищення ефективності протипухлинної вакцини	28
Кривенда А. Модифіковане середовище болда для культивування діатомей	30
Цапенко П., Можеїтова О., Мірошніченко М., Лященко Т. Вплив речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів	32
Тубальцева І., Тукаленко Є., Ракочі О., Макачук М., Лозова В. Кверцетин попереджує зміни умовнорефлекторної інструментальної діяльності щурів після впливу іонізуючої радіації у дозі 2,5 Гр	34
Каніболоцький Д. Новосильна О., Негруцький Б., Мірошніченко М. Молекулярна динаміка другої ізоформи фактора елонгації трансляції 1A людини	37
Коренєва А., Міщенко Л. Електронно-мікроскопічне дослідження вірусних хвороб <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	39
Біда О., Серга О., Паршикова Т. Оцінка фізіологічного стану сортів пшениці (<i>Triticum aestivum</i> L.) залежно від рівня фосфорного живлення	41
Таран Н., Ситар О., Карпенко Н. Електрофоретичний аналіз запасних білків насіння сортів <i>Glycine max</i> (L.) Merr	44
Пенчук Ю., Карпов О., Ульберг З., Молчанець О. Технологічні параметри культивування клітин-продуцентів інтерферону в дослідній установці з використанням імоболізованого індуктору	46
Балашов І., Лукашов Д. Наземні молюски підстилки широколистяних лісів правобережного лісостепового Придніпров'я	48
Яніш Є. Порівняння результативності методів обліку воронових птахів (<i>Corvidae</i>)	50
Горго Ю., Харковлюк-Балакіна Н., Горлов Д., Шарафі Р. Інформаційні оцінки фізіологічних особливостей працездатності операторів різного віку	52
Дворченко К., Ковальова В., Харченко О. Пероксидація ліпідів у гепатоцитах щурів за умов виразки шлунка	54

CONTENTS

ISSUE 49

Rayetska Ya., Ostapchenko L. Study of activities of adenylatcyclase, gyanylatcyclase and cyclic nucleotide phosphodiesterase in spleen, thymus and tumor tissues before and after irradiation treatment.....	6
Bogdanova O., Kuzmenko L., Drobinska O., Ostapchenko L. Nitric oxide synthase system participation in development and recovering of stress-induced lesions of stomach mucosa	7
Mozheitova O., Moroz O., Tsapenco P., Lyashchenko T. Effects of prostaglandin F2 α on bile formation in rat liver	10
Prokopov. V., Kuzmenko L., Bogdanova O., Prokopova K. 2',5'-oligoadenylatesynthetase activity in lymphocytes under experimental stomach ulcer	12
Voronina O., Grishuk V., Dzerzhinsky M. Ultrastructural changes in rat oxyntic mucosa during hypergastrinaemia.....	13
Myakushko S., Stepanenko M. Age features of litter size of two rodents species	15
Leschenko P., Novikova I., Parshikova T., Posudin I. Mobility of cells <i>Euglena gracilis</i> Klebs at different stages of development at presence of six-valets chrome	17
Pronina O., Bezrukov V. Вплив ультрафіолету різного спектрального складу на дріжджі <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
Golenko A., Dzeverin I., Myakushko S Vital Functions of Serotine Bat (<i>Eptesicus serotinus</i>) in Laboratory Conditions During a Year	22
Semchuk L., Romashev S., Andriychuk E., Ignatenko T. Studying of an ecological role of the natural isolates of phytopathogenic bacteria' phages in agroecososes.....	25
Potebnya G., Trokhimenko N., Pozur V. The means of improvement of cancer autovaccine efficacy	28
Krivenda A. Bold basal medium modification for diatoms cultivation	30
Tsapenko P., Mozheitova O., Mirosnichenko M., Lyashchenko T. Influence of substance P on hepatocytes membrane potential	32
Tubaltseva I., Tkalenko E., Rakochi O., Makarchuk M., Lozova V. Quercetin prevents the postexposure changes of conditioned activity of the rats after γ -exposure (2,5 Gy).....	34
Kanibolotsky D., Novosyl'na O., Negrutskii B., Miroshnychenko M. Molecular dynamics of the second isoform of human translation elongation factor 1A	37
Koreneva A., Mishchenko L. Electron microscopy investigation of virus diseases of <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	39
Bida O. Serga O. Parshykova T. Physiology statys of variety wheat upon phosphor supply level	41
Taran N., Sytar O., Karpenko N. Electrophoretical analysis of seed's storage proteins of <i>Glycine max</i> (L.) Merr. Sorts	44
Penchuk Y., Karpov A., Ul'berg Z., Molchanetz O. Technological parametrs of the interferon-producing cells cultivation in an experimental bioreactor using granulated immobilized inducer	46
Balashov I., Lukashov D. Terrestrial mollusks in soil of the broad-leaved forests on right bank forest-steppe Dnieper drainage area	48
Yanish E. Comparison of efficiency of different methods of corvid birds (Corvidae) count.....	50
Gorgo Y., Kharkovlyuk-Balakina N., Gorlov D., Sharafi R. Information evaluation of physiological properties ability estimation of persons at different age	52
Dvorschenko K., Kovalyova V., Charchenko O. Lipids peroxidation in gepatocytes of rats at stomach ulcer	54

Мандрик С., Капустян Л., Сидорик Л., Остапченко Л. Експресія білків теплового шоку Hsp70 і Hsp90 у парієтальних клітинах шурів за умов розвитку хронічного атрофічного гастриту	56
Сківка Л., Шпак Є., Швець Ю., Позур В. Динаміка розвитку гуморальної імунної відповіді кролів різних порід при комбінованій схемі імунізації мікобактеріями	58
Харченко О., Гавриш Л., Чайка В. Активність алкогольдегідрогенази печінки шурів при експериментальній алкогольній інтоксикації	60
Латишенко Л., Решетнік Є., Весельський С., Макарчук М. Вплив стадолу та налоксону на жовчоутворення та хімічний склад жовчі у шурів	61
Середа С.В., Козерецька І.А. Нова curled-like мутація <i>Drosophila virilis</i>	64
Таран Н., Ситар О., Карпенко Н. Ідентифікація вітчизняних сортів <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	66
Бисов А., Коротєєва Г., Поліщук В., Хонг Ш. Скринінг вірусних хвороб чорного перцю (<i>Piper nigrum</i> L.) в умовах Південного В'єтнаму	67
Кравченко О., Гавриш Л., Степанов Ю. Дослідження активності Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази в мембранних препаратах клітин слизової оболонки товстої кишки за умов експериментальної моделі виразкового коліту	70
Гайда Л., Карпюк О., Тимошенко М., Остапченко Л. Дослідження активності глутатіон-S-трансферази в цитозолі парієтальних клітин за умов розвитку експериментального атрофічного гастриту	72
Максимович Я., Дробінська О., Гавриленко Ю. Оксид азоту в патогенезі виразки шлунку	73
Лопарьов С., Яніш Є. Щільність популяції воронкових птахів (<i>Corvidae</i>) на території Поділля з 1970 по 2005 рр.	76
Горлов Д., Шарафі Р., Богданов В., Лисенко В., Горго Ю. Вплив метеорологічних факторів на самопочуття і функціональний стан людини в осінній і весняний періоди	77
Чікіна Л., Горго Ю. Вплив процесу уявної ротації об'єктів на електрофізіологічні характеристики шкіри людини	80
Лукаш О. Альнетальний флороценотичний комплекс Східного Полісся	83
Радченко О., Покровська Т. Бактерицидна дія бензалконіум хлориду на мікрофлору піхви	85
Афанасьєва К., Шувалова Т., Жажицька М., Сиволоб А. Швидкість виходу ДНК при нейтральному та лужному електрофорезі ізольованих клітин	87
Філімонова Н., Куценко Т., Макарчук М., Попова О. Варіабельність швидкості центральної обробки інформації у дітей молодшого дошкільного віку	89
Богданова О., Кот Л., Лукашов Д., Сенін С. Вміст цинку у клітинах слизової оболонки шлунка за умов холодового стресу	94
Нурищенко Н., Чорноморець П., Пелюх Л., Мірошніченко М. Біологічна ефективність терапевтичного ультразвуку різних інтенсивностей	96
Ватліцов Д., Клепо А., Андрейченко К., Андрейченко С. Кількісні закономірності розвитку клітинної загибелі в гамма-опромінених сперматозоїдах шурів	98
Камзел О., Петренко С., Будзанівська І., Шевченко О. Кореляція між вмістом цинка та ефективністю реплікації вірусу тютюнової мозаїки у рослинах тютюну	100
Горлов Д., Богданов В., Горго Ю. Зміни електродермальних потенціалів людини під впливом метеофакторів	102
Моргаєнко О., Дробінська О. АТФ-азна активність актоміозину гладеньких м'язів шлунка шурів за умов стресової виразки	103
Кураченко Н., Біденко В., Давиденко А. Використання солей і комплексонатів мікроелементів у годівлі молочних корів зони радіоактивного забруднення	104

CONTENTS

ISSUE 50

Mandryk S., Kapustyan L., Sydoryk L., Ostapchenko L. Hsp70 and Hsp90 expression levels in rat parietal cells upon chronic atrophic gastritis development.....	56
Skivka L., Shpak E., Shvez Yu., Pozyr V. The dynamics of humoral immune response in different strains of rabbits under the combine mycobacteria administration	58
Charchenko O., Gavrish L., Chaika V. Alcohol dehydrogenase activity in rat liver under the experimental alcohol intoxication	60
Latyshenko L., Reshetnik E., Veselskyj S., Makarchuk M. Influence of stadol and naloxon on bile secretion and chemical compositions of bile on the rats.....	61
Sereda S., Kozeretska I. A new curled-like mutation of <i>Drosophila virilis</i>	64
Taran N., Sytar O., Karpenko N. The identification of ukrainian sorts <i>Glycine max</i> (L.) Merr.....	66
Bysov A., Korotyeveva A., Polischuk V., Hing Sh. Screening of black pepper (<i>Piper nigrum</i> L.) virus diseases on the territory of South Vietnam	67
Kravchenko O., Gavrish L., Stepanov Yu. Membrane Na^+ , K^+ -ATPase, Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase and 5'-nucleotidase activities in colon mucous cells under the ulcer colitis experimental model	70
Gayda L., Karpuk O., Tymoshenko M., Ostapchenko L. Glutathione S-transferase activity in cytosol of parietal cells under development of the experimental atrophic gastritis	72
Maksymovych I., Drobinska O., Gavrilenko Yu. Nitric Oxide in Gastric Ulcer Pathogenesis	73
Loparev S., Yanish E. Population density of corvin birds (<i>Corvidae</i>) in Podilla (Ukraine) from 1970 to 2006	76
Gorlov D., Sharafi R., Bogdanov V., Lysenko V., Gorgo Yu. The influences of meteorological factors on the health and functional state of human at the autumn and spring times	77
Chikina L., Gorgo Ju. Influence of process of mental rotation of objects on electrophysiological characteristics of a skin of the person	80
Lukash O. Alnatal florocenotical complex of the Eastern Polissa	83
Radchenko O., Pokrovska T. Bactericide effect of benzalkonium chloride on vaginal flora	85
Afanasieva K., Shuvalova T., Zazhytska M., Sivolob A. Rate of DNA exit during neutral and alkaline comet assay	87
Filimonova N., Kutsenko T., Makarchuk M., Popova O. Variability of speed of the central processing of the information at children of younger preschool age	89
Bogdanova O., Kot L., Lukashov D., Senin S. Zink content in stomach mucosa cells under conditions of cold induced stress	94
Nurishchenko N., Chernomorets P., Pelyukh L., Miroshnychenko M. Biological effectiveness of therapeutic ultrasound with different intensities.....	96
Vatlitsov D., Klepko A., Andreychenko K., Andreychenko S. Quantitative peculiarities of cell death development in gamma-irradiated rat spermatozoa.....	98
Kamzel O., Petrenko S., Budzanivska I., Shevchenko O. Correlation between zinc content and efficiency of Tobacco mosaic virus replication in tobacco plants.....	100
Gorlov D., Bogdanov V., Gorgo Yu. Skin potential level changes of people under meteorological factors influence	102
Morgaienko O., Drobinska O. ATP-ase activity of rat gastric smooth muscle actomyosin under stress ulcer	103
Kurachenko N., Bidenko V., Davidenko A. Use of salts and complexonents of microelements in meal of dairy cows a zone of radioactive pollution.....	104

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АДЕНІЛАТЦИКЛАЗИ, ГУАНІЛАТЦИКЛАЗИ ТА ФОСФОДІЕСТЕРАЗИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ У ТКАНИНАХ СЕЛЕЗИНКИ, ТИМУСУ, ПУХЛИНИ ЩУРІВ ДО І ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ

Досліджено активності аденілатциклази, гуанілатциклази та фосфодіестерази у тканинах селезінки, тимусу, пухлини щурів за умов радіотерапії.

It was studied activities of adenylatcyclase, gyanylatcyclase and cyclic nucleotide phosphodiesterase in spleen, thymus and tumor tissues after irradiation treatment.

Вступ. Вплив факторів оточуючого середовища на організм людей призводить до неухильного зростання кількості онкологічних захворювань. Променева терапія є одним із засобів радикального лікування злоякісних новоутворень, поряд із хірургічним і хіміотерапевтичним лікуванням. Локальний вплив іонізуючої радіації на пухлину в період експотенційного росту обумовлює загибель її клітин за механізмами некрозу й апоптозу. Одночасно променева терапія призводить до появи в організмі додаткових ініціаторів ліпопероксидації. Від цього в тій чи іншій мірі страждають здорові органи й системи організму, знижується їх загальна й протипухлинна резистентність, що полегшує розвиток рецидивів і метастазів пухлини [5].

Дослідження молекулярних механізмів трансдукції сигналів у клітинах різного походження за умов злоякісного росту та променевої терапії для з'ясування їх ролі в цих процесах є актуальним напрямом сучасної науки. Аденілат- та гуанілатциклази, а також фосфодіестерази цГМФ та цАМФ є ключовими ферментами сигнальної системи циклічних нуклеотидів. Відомо, що з порушенням їх функціонування пов'язаний розвиток цілого ряду патологічних процесів [3]. З'ясовано, що променева терапія викликає порушення функціонування системи циклічних нуклеотидів, змінює прийом і переробку клітинами поступаючих до них гормональних сигналів. Проте радіаційно-індуковані порушення функціонування системи циклічних нуклеотидів зумовлені не тільки змінами стаціонарних концентрацій цГМФ і цАМФ, а і змінами активності ферментів, які контролюють їх внутрішньоклітинний рівень: аденілатциклази (АЦ), гуанілатциклази (ГЦ) і фосфодіестерази (ФДЕ) циклічних нуклеотидів.

Метою даної роботи було з'ясування молекулярних механізмів трансдукції сигналів у клітинах різного походження при розвитку карциноми Герена, локальному рентгенівському опроміненні тварин у терапевтичних дозах.

Об'єкт та методи досліджень. В досліді використували білих лабораторних щурів-самців масою 130 ± 10 г, (розведення віварію УНДІОР), яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тваринам трансплантували карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції у ділянку стегна задньої кінцівки 20%-ної суспензії пухлинних клітин на 0,9%-му розчині NaCl, отриманих від щура-донора за методикою [1]. Пухлину на 8-му добу після прищеплення піддавали локальному рентгенівському опроміненню в терапевтичних дозах на апараті РУМ-17 за таких умов: напруга – 180 кВ, сила струму – 10 мА, фільтри – 0,5 мм Cu +1,0 мм Al, потужність дози – 123 Р/хв, шкірно-фокусна відстань – 25 см. Тварин декапітували через 1, 3 та 7 діб після опромінення. Активність ферментів визначали в цитозольній фракції клітин, активність ФДЕ визначали ви-

користовуючи методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol [2]. Активність ГЦ визначали за методом послідовної хроматографії на колонках Al_2O_3 і Dawex, використовуючи рекомендації [4]. Визначення активності АЦ проводили як рекомендовано в роботі [6]. Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами статистики.

Результати та їх обговорення. Відомо, що пухлинний процес (трансплантована карцинома Герена щурів) супроводжується незначним зниженням вмісту цАМФ і підвищенням вмісту цГМФ у клітинах селезінки й тимусу, і особливо в пухлині щурів. Локальне опромінення пухлини в дозі 10 Гр призводить до ще більшого зниження цАМФ і підвищення рівню цГМФ у досліджуваних органах. Для з'ясування можливих причин порушень в системі циклічних нуклеотидів нами була визначена активність ферментів аденілат- та гуанілатциклази, а також фосфодіестерази цГМФ та цАМФ у селезінці, тимусі та пухлині щурів у контролі та при локальному опроміненні в дозі 10 Гр (табл.).

В результатах, наведених в таблиці, показано зменшення активності аденілатциклази особливо у селезінці та пухлині порівняно з контролем як при злоякісному рості, так і на фоні опромінення. Активність гуанілатциклази збільшувалась у всі терміни після опромінення: у тимусі її рівень був максимальним на 3 добу (зростання у 2 рази), у пухлині – на 7 добу (зростання в 2,5 рази). У селезінці активність цього ферменту підвищувалась з максимумом на 3 добу після опромінення (в 1,3 рази) порівняно з контролем.

Опромінення впливало неістотно на активність фосфодіестерази цАМФ, із незначними коливаннями в залежності від терміну дії та тканини, що досліджувалась (табл.).

Зміни активності ФДЕ цГМФ як за пухлинного процесу, так і за дії опромінення, були схожими: у селезінці її значення суттєво не відрізнялись від контролю, у тимусі – зменшувалися в усі терміни дослідження, а в пухлині – зменшувалися у 1,5 рази (табл.).

Отримані дані корелюють із змінами рівню циклічних нуклеотидів у досліджуваних органах за умов розвитку пухлинного процесу та опромінення. Можна припустити, що падіння рівню цАМФ у селезінці, тимусі й пухлині щурів є результатом пригнічення активності ферменту їх синтезу – аденілатциклази, а зростання рівня цГМФ – результатом стимуляції гуанілатциклази, що є найбільш вираженим у лімфоїдних органах. Оскільки зміни активності ФДЕ цАМФ та цГМФ за умов опромінення та злоякісного росту були різноспрямованими та статично не значимими, ми припустили, що зміни рівню циклічних нуклеотидів відбувалися в результаті дії АЦ та ГЦ, а не ФДЕ.

Таблиця. Активність аденілатциклази (АЦ), гуанілатциклази (ГЦ) [пмоль/хв·мг білка], фосфодіестераз(ФДЕ) ЦГМФ і цАМФ у тканинах селезінки, тимусу, пухлини щурів до і після опромінення пухлини (М±m; n=3-5)

Орган	Експериментальний стан	АЦ	ГЦ	ФДЕ	
				цАМФ	цГМФ
Селезінка	контроль (інтактні щури)	24,1 ± 3,8	1,6 ± 0,2	334,0 ± 31,6	0,68 ± 0,2
	8 доб. після прищеплення	28,1 ± 2,5	1,8 ± 0,3	240 ± 16,5*	0,4 ± 0,2
	1 доб. після опромінення	12,6 ± 2,1	2,3 ± 0,3*	280 ± 16,4*	0,38 ± 0,2
	3 доб. після опромінення	14,1 ± 3,2	2,2 ± 0,2	260 ± 15,0*	0,42 ± 0,3
	7 доб. після опромінення	21,0 ± 2,3*	1,9 ± 0,4	290 ± 20,5	0,73 ± 0,3
Тимус	контроль (інтактні щури)	8,2 ± 1,2	1,1 ± 0,1	240 ± 25,3	0,73 ± 0,1
	8 доб. після прищеплення	7,5 ± 1,5	1,5 ± 0,2*	220 ± 11,8	0,5 ± 0,1*
	1 доб. після опромінення	6,5 ± 1,8	2,1 ± 0,2*	260 ± 11,8*	0,5 ± 0,2
	3 доб. після опромінення	6,2 ± 2,1	2,4 ± 0,1*	240 ± 11,2*	0,68 ± 0,2
	7 доб. після опромінення	7,5 ± 2,8	1,8 ± 0,5	250 ± 15,1	0,54 ± 0,3
Пухлина	8 доб. після прищеплення	8,4 ± 2,3*	0,98 ± 0,15	220 ± 12,8	0,9 ± 0,2*
	1 доб. після опромінення	6,8 ± 2,1	2,25 ± 0,2*	205 ± 10,1	1,15 ± 0,3
	3 доб. після опромінення	5,8 ± 1,8	2,8 ± 0,2*	295 ± 15,8*	1,1 ± 0,2
	7 доб. після опромінення	5,6 ± 2,1	2,95 ± 0,2	201 ± 10,1*	0,85 ± 0,2

*- p ≤ 0,05 порівняно з контролем.

Отримані нами дані повністю узгоджуються з результатами інших авторів щодо пострадіаційних змін рівнів циклічних нуклеотидів [7].

У цілому ряді попередніх робіт було експериментально показано, що уже в ранній період післяпроменевого ураження змінюється стаціонарний рівень цГМФ і цАМФ, а саме, після впливу іонізуючої радіації відбувається поступове, залежне від часу зниження цАМФ і незначне зростання цГМФ. У подальші терміни досліджень опромінення зменшення вмісту цАМФ прогресувало, а концентрація цГМФ незначно знижувалась, що співвідносилося з [7].

Вивчення процесів, що регулюються системою циклічних нуклеотидів за умов дії іонізуючої радіації, давно привертають увагу дослідників. Показано, що опромінення організму в летальних і надлетальних дозах, а також у дозах радіації, які викликають гостру променеву хворобу, призводило до зниження рівня цАМФ та підвищення концентрації цГМФ у початковий період після дії іонізуючого випромінювання.

Можна припустити, що порушення функціонування систем цГМФ і цАМФ після впливу радіації може бути наслідком структурних і функціональних змін тих ферментів, активність яких контролює і метаболіти, що ми спостерігали при дослідженні пострадіаційних змін активності гуанілат- та аденілатциклазами. Крім цього, подібність характеру виявлених змін в активності цих ферментів може свідчити про однакові механізми ура-

ження каскадів цАМФ та цГМФ внаслідок дії іонізуючого випромінювання на тварин.

Висновки. Таким чином, іонізуюча радіація викликає порушення функціонування системи циклічних нуклеотидів, що може призвести до зміни прийому і переробки клітинами поступаючих до них гормональних сигналів. Радіаційне ураження цієї системи виявляється у зміні стаціонарних концентрацій цГМФ і цАМФ, що є наслідком змін активності ферментів, які контролюють їх внутрішньоклітинний рівень: аденілат- та гуанілатциклази.

1. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Пероксидное окисление и радиация. – К.: Наук. думка, 1991. 2. Лазаревич В.Г., Меньшиков М.Ю., Ткачук В.А. Характеристика двух форм фосфодіестераз циклических нуклеотидов и Ca^{2+} -зависимого белкового регулятора в скелетных мышцах кролика // Биохимия. – 1979. – № 10 – С. 1842-1852. 3. Остапенко Л.И. Роль автофосфорилирования в регуляции активности cAMP-зависимых протеинкиназ из лимфоцитов селезенки крысы в условиях воздействия ионизирующей радиации // Укр. биохим. журн. – 1997. – Т. 69, № 1. – С. 70-74. 4. Nakasawa A., Sano M., Saito T. Subcellular distribution and properties of guanylate cyclase in rat cerebellum // Biochim. et biophys. Acta. – 1976. – V. 444, № 2. – P. 563-570. 5. Suzuki K., Kodama S., Watanabe M. Extremely low-dose ionizing radiation causes activation of mitogen-activated protein kinase pathway and enhances proliferation of normal human diploid cells // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61, № 14. – P. 5396-5401. 6. White A., Zenser T. Separation of cyclic 3',5'-nucleoside monophosphates from other nucleotides on aluminum oxide columns. Application to the assay of adenylyl cyclase and guanylyl cyclase // Anal. Biochem. – 1974. – V. 41, № 2. – P. 372-396. 7. Van der Maazen K.W., Van der Kogel A.J. Radiosensitivity of rat glial stem cells in vitro // Int. J. Radiat. Biol. – 1990. – Vol. 58, № 6. – P. 1048-1049.

Надійшла до редколегії 26.12.06

УДК 577.125.6

О. Богданова, канд. біол. наук, Л. Кузьменко, асп.
О. Дробінська, канд. біол. наук, Л. Остапенко, д-р біол. наук

УЧАСТЬ СИСТЕМИ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ В РОЗВИТКУ ТА ВІДНОВЛЕННІ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА

Встановлено зростання активності синтази оксиду азоту в клітинах слизової оболонки шлунка за умов розвитку та у процесі відновлення виразок, індукованих стресовим фактором. Більш значне зростання активності фермента було характерне для тварин, яким вводили противиразковий препарат омепразол. У групі тварин, які отримували омепразол, але не підлягали стресу, була встановлена незначна активація синтази оксиду азоту на першу, другу, а також п'яту добу введення препарату.

Increasing of nitric oxide synthase activity in cells of gastric mucosa was established after development and during recovering of lesions induced by stress. In omeprazole treated animals that increase was more potent. Less expressed activation of the enzyme was observed in not stressed animals, treated with the drug.

Вступ. Синтаза оксиду азоту, NO-синтаза, NOS є одним з ключових ферментів регуляції функціональної активності клітин шлунково-кишкового тракту. Існує 3 форми NOS, серед яких дві є малопродуктивними конститутивними (cNOS) і функціонують у фізіологічному

режимі, а третя – індукцибельна макрофагальна (iNOS) активується за різних патологічних станів та продукує на декілька порядків вищий рівень NO. Функціонування конститутивних NOS є умовою компенсування різних незначних відхилень від гомеостазу: так, вазоді-

лятація у наслідок викиду оксиду азоту призводить до зростання надходження HCO_3^- з крові до шлункового секрету та дезактивації надлишкової соляної кислоти. NO з ендотеліальних, тучних та епітеліальних клітин здатний знижувати адгезивні та агрегіційні здатності, уповільнювати вільні радикали та пригнічувати шлункову секрецію, що має результатом зростання секреції слизу, підвищення відновлення тканини та інгібування активації тромбоцитів, такі процеси збільшують стійкість до ураження слизової.

NO є короткоживучою сполукою, яка при взаємодії з молекулярним киснем утворює два продукти – нітрит- та нітрат-аніони, які виводяться з організму. Однак, при запальній реакції відбувається активація індукційної синтази оксиду азоту та продукуються значно більші кількості NO. Оксид азоту реагує з активними формами кисню, що продукуються у надвеликих кількостях клітинами запалення, що призводить до утворення токсичного пероксинітриду. Цей інтермедіат є цитотоксичною речовиною з високою агресивністю до внутрішньоклітинних структур: ядра, біологічних мембран, ферментативних білків тощо. Одним з нещодавно відкритих регуляторних механізмів функціонування білків є нітрування тирозину. За умов надвеликих кількостей оксиду азоту відбувається атака залишків тирозину у білках цим реакційно здатним радикалом та їх ковалентна модифікація, що призводить до зміни біологічної функції білкових молекул.

Сьогодні питання участі системи синтази оксиду азоту у розвитку різних патологій шлунково-кишкового тракту широко вивчається [1]. Конститутивні ізоформи NOS локалізовані: нейрональна на поверхні клітин слизової оболонки шлунка, ендотеліальна – у клітинах капілярів у нижньому шарі шлункових залоз та у підслизовій. У фізіологічних умовах оксид азоту функціонує як внутрішньоклітинний месенджер, регулюючи вивільнення слизу. Крім того, оксид азоту залучений у механізми, які підтримують цілісність слизової. Однак, не досить вивченою є роль цих ферментів у процесах відновлення слизової оболонки шлунка, СОШ, за умов виразкових уражень, що і було метою наших досліджень.

Об'єкт та методи досліджень. Досліди були проведені на нелінійних білих щурах-самцях масою 200г. Експериментальну виразку шлунка у піддослідних тварин викликали згідно методу [4] за допомогою холодового стресу. Омепразол (відомий противиразковий препарат, інгібітор протонної помпи) вводили щурам внутрішньочеревно у дозі 0,8 мг/кг один раз на добу протягом 0-5 доби після виразкоутворення, оскільки на п'яту добу вже практично не було видимих уражень СОШ. Тварин декапітували через 40 хв (середній період напіввиведення омепразолу). Активність синтази оксиду азоту визначали за специфічним розщепленням $\text{NADPH}+\text{H}^+$ [3] і виражали в нмоль $\text{NADPH}+\text{H}^+$, що окиснюється протягом 1 хв на 1мг білку. Вміст оксиду азоту визначали за допомогою діазореакції з реактивом Грісса та обраховували із суми вмісту нітритів та нітратів, відновлених до нітритів азоту металевим цинком [2], виражаючи у нмоль/мг білку.

Результати та їх обговорення. Питання ролі метаболізму оксиду азоту у формуванні та загоєнні виразкових дефектів слизової оболонки ШКТ, не дивлячись на велику увагу дослідників, й досі є одним з найбільш дискусійних аспектів біохімічної гастроентерології. З одного боку, класичним є уявлення про позитивну роль конститутивних ізоформ синтази оксиду азоту та негативну – індукційного ферменту. Так, відомо, що оксид азоту може спричиняти як захисний, так і уражувачий вплив на тканини ШКТ. NO, синтезований за фізіо-

логічних умов конститутивними синтазами, регулює судинний тонус, захищає мікрокапіляри від ушкодження, модулює адгезію запальних клітин. За фізіологічних концентрацій NO виявляє антиапоптичний ефект на гастроінтестинальні клітини шлунка.

Експресія індукційної форми ферменту, здатної продукувати надлишковий рівень NO, є одним з механізмів ураження тканин. Такий запальний ефект залежить як від рівня експресії, так і від місцевого оточення, і здійснюється через формування пероксинітриду. Підвищення активності індукційної синтази оксиду азоту призводить до зниження вмісту відновленого глутатіону та спричиняє ураження шлунка. Надлишковий рівень NO з ендогенних чи екзогенних джерел знижує життєздатність клітин шлунка, залежно від рівня внутрішньоклітинного кальцію та активності протеїнази С.

Також показано, що оксид азоту залежно від вмісту позитивно (низькі концентрації) або негативно (високі концентрації) регулює ангиогенез, активність протеїнази С, фосфорилування ключових кіназ проліферації ERK та cJun.

Проте, нещодавно встановлено, що за етаноліндукованого ураження шлунка ендогенний NO може активувати циклооксигеназний каскад та захищати слизову. Інгібування загальної активності синтази оксиду азоту уповільнює загоєння шлункових виразок. За умов хронічних виразок введення субстрату синтази оксиду азоту L-аргініну прискорює реепітелізацію через гіперемічну, ангиогенезну та ростостимулюючу дію. Крім того, екзогенний оксид азоту індуктує експресію білків теплового шоку, зокрема hsp72, що може захищати клітину від уражувачої дії NO.

Таким чином, важливими є не лише зміни концентрації оксиду азоту та активності синтезуючих його ферментів, але й період загоєння, для якого вони характерні. Загоєння виразкових дефектів відбувається у декілька етапів, таких як формування грануляційної тканини, ангиогенез, епітеліальна регенерація. Процес загоєння координується множиною медіаторів, цитокінів та ростових факторів, продукованих місцевими тканинами. У віддалені строки після виразкоутворення залежно від інтерлейкіну 1 та NF kappa B експресується індукційна форма NOS, яка є необхідною для нормальної реепітелізації.

Для більш детального вивчення ролі синтази оксиду азоту у утворенні та динаміці загоєння виразкових дефектів нами було досліджено активність цього ферменту та вміст його продукту – оксиду азоту в клітинах СОШ у тварин відразу після холодового стресу та протягом перших п'яти діб після цього. Крім того, нами було оцінено ці показники у тварин, яким вводили проти виразковий препарат – омепразол (інгібітор протонної помпи).

Нами встановлено зростання NO-синтазної активності у клітинах СОШ відразу після зняття стресогенного чинника у 3 рази (табл.). У динаміці загоєння виразкових дефектів NO-синтазна активність залишалась підвищеною (особливо через 1 добу після холодового стресу – у 4 рази), крім показників на 4 добу, які були на рівні контролю. Є цікавим, що вміст оксиду азоту – продукту NO-синтази у клітинах СОШ за таких умов практично не змінювався, крім незначного підвищення на 3 добу (у 1,5 рази) та зниження на 4 добу (в 1,46 рази) після зняття стресогенного чинника, що співпадало із зниженням активності синтази оксиду азоту відносно попередніх термінів дослідження.

Підвищення активності синтази оксиду азоту в умовах формування виразок шлунка було показано у ряді робіт [10]. Проте, нещодавно встановлена диференційна відповідь системи оксиду азоту на такий чинник. Так, у

ранні періоди після стресу відбувається активізація індукцйбельної ізоформи ферменту, що супроводжується інактивацією конститутивних ізоформ. Цим можна пояснити встановлене нами менш виражене підвищення активності синтази оксиду азоту відразу після стресу, ніж на першу добу. З літературних джерел відомо, що підвищення вмісту оксиду азоту у слизовій досягає максимуму через 1 годину після стресу [8]. При цьому введення неселективних інгібіторів NO-синтази призводило до інтенсифікації виразкоутворення, тоді як введення селективних інгі-

біторів iNOS – до зменшення кількості виразок. Подібний ефект мали також активатори NO-синтазної активності або джерела оксиду азоту, введені перед виразкоутворенням. Більш того, цікавим є розподілення ізоформ під час гострого виразкового процесу: так, індукцйбельний фермент локалізований безпосередньо у виразкових дефектах, тоді як конститутивні форми – у підслизовій та капілярах. В роботі [6] показано відносне зниження активності NO-синтази у більш віддалені строки, що співвідноситься з отриманими нами результатами.

Таблиця. Активність синтази оксиду азоту, нмоль NADPH+H⁺/(хв•1мг білку) та вміст NO, нмоль/мг білку в клітинах слизової оболонки шлунка щурів зі стрес-індукованими виразковими ураженнями на тлі введення омепразолу, n=6

Експериментальний стан тварин	Доба після виразкоутворення					
	0	1	2	3	4	5
контроль	11,34±0,91					
	Активність синтази оксиду азоту					
виразка шлунка	34,17±3,42*	43,25±4,76*	29,719±2,97*	25,421±2,29*	13,401±1,07	21,13±1,90*
виразка шлунка+омепразол	12,68±1,01	43,64±4,80*	67,183±7,39*	77,428±9,29*	52,089±5,73*	33,334±3,33*
омепразол ¹	33,14±3,31*	77,37±9,28*	22,87±2,06*	19,01±1,71	11,52±0,92	44,96±4,94*
	Вміст оксиду азоту					
контроль	4,30±0,47					
виразка шлунка	4,43±0,49	4,41±0,49	3,57±0,36	6,47±0,83*	2,93±0,26*	4,03±0,44
виразка шлунка+омепразол	4,58±0,50	3,20±0,32	4,76±0,52	4,50±0,50	3,46±0,35	2,78±0,25*
омепразол ¹	6,07±0,79*	3,21±0,32	5,23±0,63	3,37±0,34	4,87±0,54	3,97±0,40

*- p≤0,05 порівняно з контролем;

¹- група тварин, яким вводили препарат омепразолу за відсутності дії стресового фактору.

Одними з найбільш відомих противиразкових препаратів є лікарська група необоротних селективних інгібіторів протонної помпи. Ефект препаратів цієї групи перебуває у сфері інтенсивних наукових досліджень. Так, введення омепразолу у дозах, що не знижували секреторну активність шлунка, значно зменшувало ефективність виразкоутворення за умов холодового стресу [4]. Дослідження механізмів такого ефекту показали, що омепразол демонструє антиоксидантні властивості, зменшуючи кількість продуктів ПОЛ, ушкодження ДНК, частоту апоптозу. Досліджуються також показники систем оксиду азоту у гастроентерологічних хворих під час лікування омепразолом [7]. На фоні етанол-індукованих виразкових уражень введення інгібітора NO-синтази активувало, тоді як введення донора NO інгібувало активність H⁺, K⁺-АТФ-ази – фермента, регулюючого кислотність шлункового соку, яка є агресивним фактором [5]. Цитопротективний ефект рабепразолу – лікарської речовини фармакологічної групи блокаторів протонної помпи – опосередкований системою оксиду азоту [9].

Оскільки оксидативний та нітрозативний стрес є ключовими подіями у формуванні виразкових дефектів, нами було оцінено активність синтази оксиду азоту та вміст NO в клітинах СОШ у тварин відразу після холодового стресу та протягом перших п'яти діб у тварин, яким вводили омепразол у терапевтичних дозах.

У тварин, яким вводили омепразол, не була встановлена активізація NOS відразу після стресу, проте значно зростали показники ферментативної активності протягом наступних термінів досліджень: на першу добу після утворення виразок у 3,8 рази, на другу – у 5,9 рази, на третю – у 6,8 рази, на четверту – у 4,6 рази (табл.). В останню добу досліджень активність ферменту зростала менш виражено (у 2,9 рази), що співвідносилось із незначним зниженням вмісту NO в клітинах СОШ в цей період. Таке значне підвищення активності NOS, більш ймовірно, є наслідком більш вираженої активації індукцйбельної ізоформи ферменту, оскільки саме вона є менш залежним від алостеричної регуляції йонами кальцію ферментом (омепразол може блокувати кальцієві канали), та здатна продукувати на порядок вищі кількості оксиду азоту.

Такий гіперактивуючий ефект введення омепразолу на NOS активність може бути наслідком безпосереднього впливу діючої речовини на молекулу ферменту, або опосередкованого впливу. У першому випадку логічним було б спостерігати зниження активності ферменту, оскільки синтаза оксиду азоту є багатосубодиничним ферментом, який містить велику кількість кофакторів та є складнорегульованим. З іншого боку, не виключено, що омепразол, завдяки своїй специфічній хімічній структурі є алостеричним активатором досліджуваного ферменту. Більш вірогідною є регуляція активності NOS за умов введення омепразолу опосередковано іншими ефекторними молекулами. На користь цього твердження свідчить відсутність активації синтази відразу після дії стресогенного чинника та введення препарату (у тварин, яким не вводили омепразол, у таких умовах відбувається зростання ферментативної активності у 3 рази) та гіперстимуляція синтази у інші терміни дослідження. Відомо, що омепразол на рінних етапах виразкоутворення виявляє цитопротекторні та антиоксидантні властивості [4], чим може бути пояснена відсутність активації NOS відразу після холодового стресу. Показано, що введення рабепразолу тваринам запобігало утворенню етанол-індукованих виразок. Такий ефект знімався при введенні інгібіторів синтази оксиду азоту, що вказує на можливу регуляцію препаратами цієї групи ферментів синтезу оксиду азоту [9].

Відомо, що оксид азоту приймає участь у реалізації другорядних ефектів омепразолу, більш того, показано, що введення інгібіторів NOS відмінняє цитопротективний ефект блокаторів протонної помпи, що не пов'язано із зниженням шлункової секреції. Так, введення лансопразолу призводило до підвищення вмісту оксиду азоту як безпосередньо у слизовій, так і у кровотоці від шлунка. Таким чином, показане нами зростання активності синтази оксиду азоту може бути наслідком подібного ефекту введення омепразолу.

Введення омепразолу тваринам, які не підлягали холодовому стресу (табл.) призводило до індукування NOS активності відразу після введення, та протягом 1,2 та 5 доби введення препарату, що підтверджувало

активуючий ефект введення препарату на досліджувані ферментативні системи. Зростання вмісту NO було встановлено лише після першої ін'єкції препарату.

Таким чином, нами було встановлено, що розвиток виразкових уражень СОШ у тварин після холодного стресу призводив до активації синтази оксиду азоту, особливо на першу добу після зняття стресогенного чинника. Цікаво, що введення омепразолу піддослідним тваринам мало наслідком більш значне зростання активності синтази. Введення омепразолу тваринам, які не підлягали стресу, також мало наслідком зростання активності NOS, проте менш виражене, ніж у попередній групі.

Виходячи з отриманих нами даних, значне підвищення NOS активності не супроводжувалось вираженими змінами у вмісті оксиду азоту, хоча вони були однаково спрямованими. Це може бути пояснено з огляду на те, що за умов нестачі одного із кофакторів – тетрагідрофтерину синтаза оксиду азоту може функціонувати як супероксид-продукуєчий фермент. Таким чином, може відбуватися аргінін-залежне специфічне розщеплення відновленого НАДФН, та накопичення супероксидрадикалу, що супроводжується відсутністю змін у вмісті окислених похідних оксиду азоту – нітрат та нітрит аніонів.

У подальшому для більш поглибленого вивчення участі системи синтази оксиду азоту у формуванні та загоєнні виразкових дефектів цікавим було б дослідити окремо активність індукцйбельної та конститутивних ізоформ NOS, оскільки вони перебувають у функціональному антагонізмі, а також особливості функціонування інших компонентів цієї системи – нітрат та нітритредуктаз, вміст метгемоглобіну та ін.

Висновок. Розвиток стрес-індукованих уражень слизової оболонки шлунка супроводжувався зростанням активності синтази оксиду азоту, особливо на першу

добу після зняття стресогенного чинника. За умов введення омепразолу піддослідним тваринам спостерігалось більш виражене зростання активності синтази, крім групи тварин відразу після зняття стресогенного чинника. Введення омепразолу тваринам, які не підлягали стресу, також мало наслідком зростання активності NOS, проте менш виражене, ніж у попередній групі.

1. Дробінська О.В., Остапченко Л.І., Максимович Я.С., Селезньова Л.Г. Участь оксиду азоту в процесах виразкоутворення // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2005. – №5(68). – С. 77–98.
2. Кіселюк І.О., Луцук М.Д., Шевченко Л.Ю. Особливості визначення нітратів та нітритів в периферичній крові у хворих на вірусні гепатити та при синдромі жовтяниці іншої етіології // Лабораторна діагностика – 2001. – № 3. – С. 43–45.
3. Сумбаев В.В., Ясинская И.М. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс. // Современные проблемы токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3–7.
4. Biswas K., Bandyopadhyay U., Chattopadhyay I., et al. A Novel Antioxidant and Antiapoptotic Role of Omeprazole to Block Gastric Ulcer through Scavenging of Hydroxyl Radical // J. Biol. Chem. – 2003. – 278, №13. – P. 10993–11001.
5. Bulut R., Unlucerci Y., Bekpinar S., Kuntal L. Nitric oxide-mediated regulation of gastric H⁺, K⁺-ATPase and alcohol dehydrogenase following ethanol-induced injury in rats // Dig. Dis. Sci. – 1999. – Vol. 44, № 7. – P. 1417–1422.
6. Hisanaga Y., Goto H., Tachi K., Hayakawa T., Sugiyama S. Implication of nitric oxide synthase activity in the genesis of water immersion stress-induced gastric lesions in rats: the protective effects of FK506 // Aliment. Pharmacol. Ther. – 1996. – Vol. 10, № 6. – P. 933–940.
7. Hsieh J.S., Howng S.L., Huang T.J., Wang J.Y., Chen F.M. Endothelin-1, inducible nitric oxide synthase and macrophage inflammatory protein-1alpha in the pathogenesis of stress ulcer in neurotraumatic patients // J Trauma. – 2006. – Vol. 61, № 4. – P. 873–878.
8. Min C., Hesheng L., Jihong C., Qiaoyun T., Xianzhen L., Chireyeth S. Effects and mechanism of changes of local neurotransmitters in rats' pylorus and bile reflux to the stomach with stress ulcer // Dig Dis Sci. – 2005. – Vol. 50, № 10. – P. 1898–1903.
9. Watanabe T., Higuchi K., Tominaga K., Fujiwara Y., Arakawa T. Cytoprotective effect of ranitidine against ethanol-induced gastric mucosal damage: possible involvement of nitric oxide // Drugs Exp. Clin. Res. – 2000. – Vol. 26, № 2. – P. 41–45.
10. Whittle B.J. Nitric oxide—a mediator of inflammation or mucosal defense // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 1997. – Vol. 9, № 11. – P. 1026–1032.

Надійшла до редколегії 26.12.06

УДК 612.35+616.36+591.132.5

О. Можейтова, асп., О. Мороз, асп.,
П. Цапенко, асп., Т. Лященко, канд. біол. наук

ЖОВЧОСЕКРЕТОРНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІД ДІЄЮ ПРОСТАГЛАНДИНУ F2 α

Досліджено зміни жовчної секреції у щурів при дії простагландину F2 α . Введення простаноїду в портальну вену підвищувало рівень холерезу і змінювало секрецію жовчних кислот.

The aim of this study was to investigate the influence of prostaglandin F2 α on bile secretion in rats. The administration of prostanoid into portal vein stimulated bile output and altered secretion of bile acids.

Вступ. Печінка являє собою найбільшу залозу шлунково-кишкового тракту, головною функцією якої є синтез та виділення жовчі. Секреція жовчі опосередковується ферментними системами гепатоцитів і холангіоцитів, а також функціональною активністю апарату секреції. Жовчоутворення – осмотично активний процес, в результаті якого відбувається транспорт солей жовчних кислот та інших компонентів жовчі в жовчні каналці за градієнтом концентрації. Утворення жовчі включає три етапи: захват із крові і транспорт в гепатоцити жовчних кислот, білірубину, холестерину та інших компонентів; синтез компонентів жовчі *de novo*; секреція в жовчні каналці [1]. Холесекреція регулюється насамперед гуморальними чинниками, такими як холецистокінін, субстанція Р, тахікінін, бомбезин, а також простагландінами. Простагландіни – біологічні регулятори, котрі вважаються міжклітинними посередниками в печінці між паренхіматозними і непаренхіматозними клітинами, проте дотепер залишається відкритим питання щодо впливу цих речовин на жовчосекреторну функцію печінки [4,5]. Тому метою нашої роботи стало вивчення змін

рівня холерезу та органічних компонентів жовчі при дії простагландину F2 α , що надасть можливість використання препаратів цих біорегуляторів в клініці для корекції патологічних станів і попередження захворювань гепатобіліарної системи.

Об'єкт та методи досліджень. Робота проводилась на білих щурах самцях масою 200–250 г з відпрепарованою і канюльованою загальною жовчною протокою під тіопенталовим наркозом (5мг/100г маси тіла тварини). Простагландин F2 α в дозі 10 мкг/100 г маси тіла вводився в портальну вену. Об'ємну швидкість холерезу вимірювали впродовж 3 годин досліді і розраховували в мл/г маси тіла тварини за хвилину. Вміст органічних компонентів жовчі визначали методом тонкошарової хроматографії [2].

Результати та їх обговорення. Результати наших досліджень показали, що після введення в портальну вену простагландину F2 α в дозі 10 мкг/100 г маси тіла тварини спостерігалось підвищення рівня холерезу щодо контрольних спроб (рис. 1).

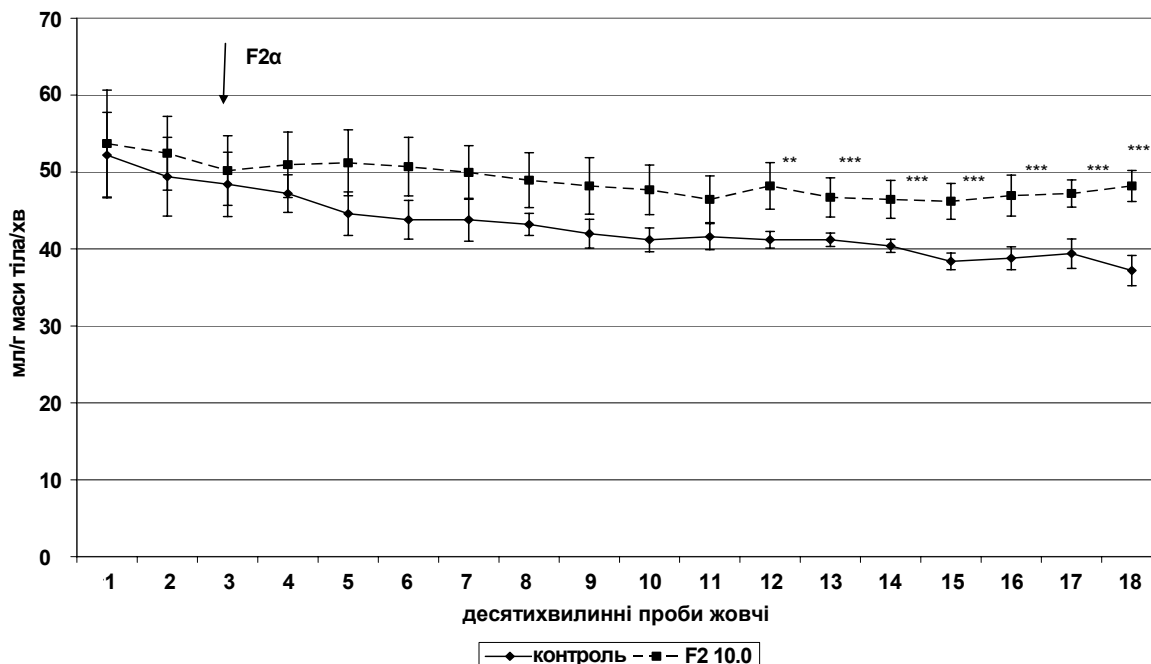


Рис.1. Зміни рівня холерезу у щурів під впливом простагландину F2α (10,0 мкг/100 г маси тіла, n=5);
 ** – P<0,05; *** – P<0,001

Крива холерезу безпосередньо після введення препарату демонструє збільшення виділення жовчі, що незначно зменшується в 11-й пробі, після чого знову спостерігається тенденція до підвищення рівня холерезу. Отже, застосування біорегулятора приводить до посилення виділення жовчі, котре з одного боку пояснюється як безпосередньою дією простагландину на гепатоцити, так і можливим опосередкованим впливом через ендотелій судин портальної системи. У досліджах із використанням протаноїду виявилось, що ця речовина, змінюючи об'ємну швидкість холерезу, неоднаковим чином змінює концентрації жовчних кислот, а, відповідно, і неоднаковою мірою змінює дебіт останніх в секреті.

Для вивчення змін синтетичної і транспортної функції печінки нами був обчислений дебіт компонентів біліарного секрету – жовчних кислот і ліпідів, котрі були визначені у півгодинних пробах жовчі. В наших контрольних пробах на фоні зниження рівня холесекреції дебіт жовчних кислот зменшувався. Введення простагландину F2α в дозі 10 мкг/100 г маси тіла тварини практично не змінює вміст таурохолевої кислоти в жовчі. Дебіт сумарних таурохолатів дещо знижується після введення речовини, але далі збільшується протягом дослідження. Дебіт глікохолевої кислоти при введенні наведеної дози протаноїду не відрізнявся від контрольного, проте рівень сумарних глікохолатів підвищувався безпосередньо після введення речовини і далі впродовж дослідження на 59% (P<0,001). Отримані дані свідчать про збільшення кон'югації холатів з гліцином, тоді як кон'югація їх з таурином залишається поза дією біорегулятора. Введення простагландину F2α знижує в секреті дебіт вільних жовчних кислот: холевої та дезоксихолевої на 88% та 78% відповідно (P<0,001). Біохімічні зміни, а саме збільшення кон'югатів і зменшення вільних жовч-

них кислот можна оцінити як позитивні, бо відомо, що це є показником зниження ймовірності каменеутворення в жовчовидільних шляхах.

Ліпіди жовчі, як і жовчні кислоти, є основними органічними компонентами біліарного секрету [6]. До основних ліпідних складових жовчі відносять фосфоліпіди, холестерин і його ефіри, вільні жирні кислоти, тригліцериди, зміни яких ми визначали у виділюваній жовчі. Простагландин F2α в застосованій нами дозі зменшував вміст холестерину в секреті на 20% (P<0,05) та дебіт його ефірів в жовчі на 53% за весь дослід (P<0,05). Застосування біорегулятора призводить також до зменшення вмісту вільних жирних кислот і тригліцеридів в секреті впродовж дослідження (P<0,001).

Висновки. Підсумовуючи вищевикладене слід зазначити, що простагландин F2α чинить системну дію на гепатобіліарну систему, про що свідчить підвищення рівня холерезу, а також збільшення кон'югованих жовчних кислот з гліцином, посилення процесів ліполізу, зниження етерифікації холестерину в печінці.

1. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей // Под ред. В.Т. Ивашкина. – М.: ООО "Издат. дом "М-Вести", 2002. – С. 416.
2. Способ определения желчных кислот в биологических жидкостях: А.с. № 1624322 СССР, МКИ В 25J15/00/ Весельский С.П., Лященко П.С., Лукьяненко И.А. (СССР). – Заявлено 25.01.1988; Опубл. 30.01.91, Бюл. № 42.
3. Breyer R., Bagdassarian C., Myers S. et al. Prostanoid receptors: Subtypes and Signaling // Annu.Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2001. – Vol. 41. – P. 661–690.
4. Fennekohl A., Puschel G., Jungermann K. et al. Differential expression of prostanoid receptors in hepatocytes, Kupffer cells, sinusoidal endothelial cells and stellate cells of rat liver // J. Hepatol. – 1999. – Vol. 30. – P. 38–47.
5. Keith G. Tolman. Eicosanoids and the liver // J. Prostaglandins and other Lipid. Mediat. – 2000. – Vol. 61. – P. 163–174.
6. Fuchs M. Bile acid Regulation of hepatic physiology: III. Regulation of bile acid synthesis: past progress and future challenges. // J. Pathology. – 2002. – Vol. 284. – P. 551–557.

Надійшла до редколегії 15.12.06

УДК 616.33-002-092

В. Прокопов, студ., Л. Кузьменко, асп.,
О. Богданова, канд. біол. наук, К. Прокопова, канд. біол. наук,

2',5'-ОЛІГОАДЕНІЛАТСИНТЕАЗНА АКТИВНІСТЬ В ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИНАХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА

Встановлено збільшення активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах щурів при стресовій моделі виразки шлунка та її зменшення при етаноловій моделі, тоді як в процесі загоєння виразки активність ферменту перевищувала контрольні значення в обох випадках. Введення тваринам препарату фенугрека призвело до нормалізації досліджуваного показника

It was shown that 2',5'-oligoadenylate-synthetase activity increased in rat lymphocytes under stress stomach ulcer and decreased under alcohol ulcer model. The enzyme activity increased under ulcer cicatrization in both models. The fenugreek administration to rats caused the normalisation of investigated index.

Вступ. Однією з найбільш поширених патологій органів травлення на сьогодні залишається виразкова хвороба шлунка [1]. Останнім часом особливий інтерес викликає вивчення процесів сигнальної трансдукції за умов дії різних стресорних чинників, результатом чого є розвиток патологічних станів. В цьому аспекті привертає увагу система 2',5'-олігоаденілату, що є ключовим компонентом інтерферон-індукованого сигнального каскаду [10, 11]. На сьогодні показано, що рівень 2',5'-олігоаденілатів, які є внутрішньоклітинними медіаторами дії інтерферону, суттєво зростає за умов розвитку різних патологічних процесів [11]. Відомо, що рівень інтерферону суттєво підвищується в тканинах шлунка у хворих на виразку, порівняно із здоровими особинами [12]. В той же час залишається нез'ясованою роль інтерферон-індукованої системи 2',5'-олігоаденілату в механізмах розвитку виразкової хвороби шлунка. У зв'язку з цим цікавим є вивчення активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази (ключового ферменту 2',5'-олігоаденілатного каскаду) за умов експериментальної виразки шлунка. Оскільки на виникнення і розвиток патологічного стану в першу чергу реагує імунна система, інтерес представляє дослідження внутрішньоклітинних молекулярних перетворень в лімфоїдних клітинах.

Метою роботи було дослідження змін активності 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах щурів у контролі та за умов розвитку патологічних станів, що виникали в результаті створення експериментальної моделі алкогольної та стресової виразки шлунка. Також було вивчено вплив на досліджуваний показник препарату фенугрека.

Об'єкт та методи дослідження. Експерименти проводились на нелінійних білих щурах масою 150–200 г. Експериментальну етанолову модель виразки шлунка створювали шляхом перорального введення 80%-го етанолу (разово) [6]. Стресову виразку шлунка викликали згідно моделі іммобілізаційного "соціального стресу" [2]. Частина тварин отримувала перорально фенугрек (препарат порошку з насіння пажитника *Trigonella foenum graecum*, наданий відділом медичних та ароматичних рослин Інституту рослинництва Західно-Угорського університету) в дозі 1 г/кг ваги в 1 мл фізіологічного розчину двічі на добу протягом 7 днів після виникнення виразки. Лімфоїдні клітини виділяли з селезінки і тимусу щурів [3, 5]. Активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази визначали спектрофотометричним методом за рівнем НАДФ-Н, який відновлюється в результаті каскадних ферментативних реакцій, що ініціюються пірофосфатом – одним з продуктів синтезу олігоаденілатів [8]. Вміст білка в пробі визначали по методу Лоурі [9].

Результати досліджень та їх обговорення. Було показано, що при експериментальній стресовій виразці шлунка активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази зростає в лімфоцитах тимуса і селезінки щурів порівняно з контролем приблизно в 1,2 раза в обох імунних органах. На

7 добу після виникнення виразки шлунка в процесі її загоєння активність досліджуваного ферменту ще більше перевищувала контрольний рівень: у 2,5 раза в клітинах тимусу та майже у 2 рази в спленоцитах (табл.). Напевне, стимуляція 2',5'-олігоаденілат-синтетази у лімфоцитах щурів за умов виникнення стресової виразки шлунка та в процесі її загоєння є результатом активації інтерферон-залежного сигнального каскаду 2',5'-олігоаденілату у відповідь на дію стресових чинників.

За етанолової моделі виразки шлунка активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах тварин, на відміну від попередньо охарактеризованого стану, була значно нижчою за контрольні значення (табл.). Отримані дані можна пояснити тим, що алкоголь негативно впливає на імунітет [4], а зниження активності досліджуваного ферменту у лімфоцитах щурів може розглядатися як послаблення імунної відповіді організму за умов спиртової моделі виразки шлунка. У той же час, у процесі загоєння виразки – на 7 добу досліджень – активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази перевищує контроль у 5 та 1,5 раза в тимocyтах і спленоцитах відповідно. Дане спостереження може свідчити про відновлення функціональної активності імунокомпетентних клітин після припинення інгібуючої дії алкоголю.

Таким чином, у відповідь на виразкоутворення (за умов стресової моделі) та в процесі загоєння виразки шлунка (як при стресовій, так і етаноловій моделі) в імунокомпетентних клітинах дослідних тварин збільшується активність ключового ферменту інтерферон-залежного месенджерного каскаду, а саме 2',5'-олігоаденілат-синтетази, що свідчить про інтенсифікацію захисних механізмів і може вважатись показником відповіді імунної системи на розвиток в організмі патологічного процесу – виразкової хвороби шлунка. Водночас той факт, що активність ферменту значно перевищує контрольні значення на пізніх термінах (7 доба після виникнення виразки шлунка), коли, як показано раніше, відбувається загоєння виразки, може свідчити про порушення молекулярних процесів у лімфоїдних клітинах, що можуть призводити до виснаження захисних систем з одного боку чи розвитку неадекватно вираженої імунної відповіді – з іншого. Актуальним питанням є можливість корекції досліджуваного показника, тому цікавим є вивчення впливу на активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази біологічно активних препаратів, що володіють імуномодулюючими властивостями.

Нами було досліджено вплив біологічно-активної речовини фенугрека на активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах селезінки і тимусу щурів при стресовій та етаноловій моделях виразки шлунка. Фенугрек характеризується рядом біологічно цінних властивостей (жарознижувальна, протисклеротична, протидіабетична, загальнозміцнювальна дія та ін.), містить діосгенін (сапонін), завдяки якому володіє протизапальною та знеболюючою активністю [7, 13]. Тому цікавим

було дослідити ефекти фенугрека в умовах розвитку виразкової хвороби шлунка.

У ході досліджень було встановлено, що у щурів, які отримували фенугрек протягом 7 діб після виникнення виразки (тобто в процесі її загоєння), активність

2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоїдних клітинах зменшувалась, порівняно з контрольними тваринами (див. табл.). Фенугрек призводить до нормалізації рівня олїгоаденілатсинтетази в лімфоцитах щурів з експериментальною виразкою шлунка.

Таблиця. Активність 2',5' – олїгоаденілат-синтетази (нмоль ФФн·хв⁻¹·мг⁻¹ білка) в лімфоїдних клітинах селезінки і тимуса щурів за умов стресової та етанолової моделі виразки шлунка при застосуванні біологічно активної речовини фенугрека, (M±m, n=10)

Група досліджу	Лімфоїдні клітини	
	тимусу	селезінка
Контроль	0,611± 0,030	3,115± 0,155
Стрессова виразка шлунка	0,726± 0,035*	3,585± 0,175*
стрес – загоєння	1,478± 0,073*	5,973± 0,295*
стрес+фенугрек	1,516± 0,075*	2,204± 0,110**
Етанолова виразка шлунка	0,183± 0,008*	0,631± 0,030*
етанол – загоєння	3,209± 0,158*	4,935± 0,245*
етанол +фенугрек	2,086± 0,102**	1,752± 0,085**

* – $p < 0,05$ по відношенню до контрольної групи

** – $p < 0,05$ по відношенню до групи без препарату

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що за умов експериментальної стресової виразки шлунка та в процесі її загоєння в лімфоїдних клітинах щурів збільшується активність 2',5'-олїгоаденілат-синтетази, тоді як при етаноловій моделі показано зменшення даного показника після виникнення виразки та його зростання в ході загоєння. Введення біологічно активної речовини фенугрека мало нормалізуючий вплив на активність 2',5'-олїгоаденілат-синтетази в лімфоцитах щурів з виразкою шлунка. Подальші дослідження системи 2',5'-олїгоаденілату при розвитку виразкової хвороби є необхідним для з'ясування молекулярних механізмів функціонування клітинних месенджерних систем патологічного процесу ульцерогенезу та визначення їх ролі у формуванні захисних реакцій організму.

1. *Ивашкин В.Т., Шептулин А.А.* Избранные лекции по гастроэнтерологии. – М., 2001. 2. *Гройсман С.Д., Кареева Т.Г.* О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. указ. ВИНТИ. Деп. рукописи – 1979. – № 12. 3. *Морозов В.Г.,*

Хавинсон В.Х. Иммунологическая функция тимуса // Успехи совр. биол. – 1985. – Т. 97, № 1. 4. *Циммерман Я.С.* Хронический гастрит и язвенная болезнь // Пермь: ПГМА. – 2000. 5. *Boyum A.* Separation of leucocytes from blood and bone marrow // Scand. J.Clin. Lab. Invest. – 1968. – Vol. 21. 6. *Cao H., Wang M., Jia J., et al.* Comparison of the effects of pantoprazol enantiomers on gastric mucosal lesion and gastric epithelial cells in rats. // J. of health science. – 2004. – Vol. 50, N 1. 7. *Dixit P., Ghaskadbi S., Mohan H., et al.* Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds // Phytother Res. – 2005. – Vol. 19, N 11. 8. *Justensen J., Kjeldgaard N.O.* Spectrophotometric pyrophosphate assay of 2',5'-oligoadenylate synthetase // Anal. Biochem. – 1992. – Vol. 207, N 1. 9. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., et al.* Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 1. 10. *Player M.R., Torrence P.F.* The 2-5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation // Pharmacol. Ther. – 1998. – Vol. 78, N 2. 11. *Stark G.R., Kerr I.M., Williams B.R.G., et al.* How cells respond to interferons // Ann. Rev. Biochem. – 1998. – Vol. 67. 12. *Yamamoto N., Sakagami T., Fukuda Y., et al.* Influence of Helicobacter pylori infection on development of stress-induced gastric mucosal injury // J. Gastroenterol. – 2000. – Vol. 35, N 5. 13. *Yang W.X., Huang H.Y., Wang Y.J.* Study on chemical constituents in total saponin from Trigonella foenum-graecum // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2005. – Vol. 30, N 18.

Надійшла до редколегії 15.12.06

УДК 576:616.3

О. Вороніна, канд. біол. наук, В. Гришук, студ.,
М. Дзержинський, д-р біол. наук.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ФУНДАЛЬНОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКА ЩУРІВ ПРИ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

Досліджено ультраструктурні зміни в слизовій оболонці дна шлунка щурів при гіпергастринемії, яка була викликана 28-ми денним введенням омепразолу. Показано, що при тривалій гіпергастринемії, викликаній омепразолом, в усіх шарах слизової оболонки відбуваються зміни, які свідчать про розвиток передпухлинних процесів.

Ultrastructural changes in rat oxyntic mucosa during hypergastrinaemia induced by long-term (28 days) omeprazole administration were studied. In all mucosal layers, ultrastructural features indicating metaplastic development of epithelium were found.

Вступ. Серед усіх захворювань на рак смертність від раку органів травної системи займає перше місце. За офіційними статистичними даними, Україна знаходиться на 3-му місці в Європі по поширеності раку шлунка, уступаючи сумну пальму першості лише Росії і Білорусії. Всього в Україні щорічно реєструється біля 15–16 тис. нових випадків раку шлунка, біля 95% всіх випадків діагностується на III і IV стадіях, внаслідок чого помирає біля 14 тис. хворих в рік [1]. Тому, по-перше, пошук змін, які передують виникненню пухлин, як і раніше, залишається актуальним та далеким від завершення. По-друге, розробка засобів профілактики розвитку раку є не менш важливою проблемою, ніж проблема створення ефективних антиракових препаратів.

Серед факторів, які обумовлюють морфологічні зміни, що ведуть до малігнізації, важлива роль належить гастрину, про що свідчить значна кількість літератури, згідно якої гастрин стимулює ріст нормальної та злоякісної тканин шлунково-кишкового тракту [2]. Ряд досліджень наводять на думку про вагомий роль гастрину у патогенезі шлункової аденокарциноми завдяки не тільки підвищеному рівню циркулюючого гастрину, але також і гастрину пухлинного походження, який може бути стимулом для росту пухлини в епітелії шлунку.

У природних умовах гіпергастринемія є наслідком ваготомії, гіпоацидності та ахлоргідрії [3]. В експериментальних умовах гіпергастринемію викликають тривалим введенням інгібіторів протонної помпи, H⁺/K⁺-АТФази [4], ключового ферменту апікальної мембрани парієталь-

© Вороніна О., Гришук В., Дзержинський М., 2007

них клітин шлунку, який бере участь у продукції соляної кислоти. Незважаючи на багаточисельні докази участі гастрину в канцерогенезі, механізми регуляції гастрин-індукованої проліферації з'ясовані не до кінця. Насамперед, це стосується динаміки морфологічних змін, можливого відновлення структурного стану слизової оболонки після припинення введення омепразолу та вплив блокади трофічного ефекту гастрину на морфологічну картину слизової оболонки шлунку у щурів з гіпергастринемією. Тому метою першого етапу роботи з розробки методів профілактики канцерогенезу шлунку було дослідити морфологічні зміни в слизовій оболонці шлунка щурів, викликаних тривалою гіпергастринемією.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження з метою визначення змін в ультраструктурі клітин слизової оболонки проводили на самцях щурів п'ятимісячного віку. У ході виконання експерименту піддослідні щури отримували хронічні ін'єкції препарату Омез® виробництва "Д-р Реддіс Лабораториз Лтд." (Індія), діюча речовина якого – омепразол, що є інгібітором H^+-K^+-ATP ази, ключового ферменту апікальної мембрани парієтальних клітин шлунку, який бере участь у секреції соляної кислоти [4, 5]. Внаслідок дії омепразолу виникає гіпосекреція соляної кислоти, яка веде до гіперсекреції гастрину G-клітинами антрального відділу шлунку. Препарат розчиняли у 0,25 мл ізотонічного (0,9%) розчину NaCl та вводили щурам внутрішньочеревинно в дозі 14 мг/кг. Піддослідні щури отримували 1 ін'єкцію на добу протягом 28 діб.

Безпосередньо після розтину щурів частину слизової оболонки фундального відділу фіксували у 2,5% розчині глутарового альдегіду на какодилатному буфері (КБ) протягом 2 год. Потім тканину промивали у КБ (рН 7,2-7,4) двічі по 10-15 хв., після чого фіксували в 1% розчині чотириокису осмію на КБ протягом 1 год. Далі промивали в КБ (рН 7,2-7,4) двічі по 10-15 хв., після чого зневоднювали у спиртах зростаючих концентрацій (50%, 60%, 70% – двічі по 10-15 хв.), контрастували насиченим розчином ураніл-ацетату у 70% етанолі протягом 12 год. і зневоднювали (етанол 80%, 96%, 100%, 100%+ацетон, ацетон – двічі по 10-15 хв.). Далі матеріал поступово просочували епоксидною смолою (12 год. у суміші ацетону з епоксидною смолою, по 12 год. у Епо-ні-812 з подальшою полімеризацією епоксидних блоків в термостаті при +37°C, +45°C та +60°C).

Після заливки матеріалу у смолу, за допомогою ультрамікротома UltraCut-R (Німеччина) виготовляли ультратонкі зрізи завтовшки 70-80 нм, контрастували у водному 2,5% розчині ураніл-ацетату (10 хв.) та цитрату свинцю (20 хв.) та аналізували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу при робочому збільшенні $\times 4000$ – $\times 25000$.

Рівень гастрину в крові визначали радіоімунологічним методом визначали концентрацію гастрину в плазмі крові із використанням аналітичного набору фірми "MP Biomedicals, LLC" (USA), де в якості мітки до анти-тіл застосовували J^{125} .

Статистичну обробку результатів вимірювань здійснювали методами варіаційної статистики. Для оцінки статистичної достовірності відмінностей між середніми значеннями параметрів використовували U-критерій Манн-Уїтні. Статистично достовірними вважали відмінності між середніми значеннями порівнюваних показників при рівні значущості $p < 0,05$. Дані представлено як середнє арифметичне (M) та його стандартна помилка (m): $M \pm m$.

Результати та їх обговорення. Зміни функціонального стану слизової оболонки піддослідних щурів оцінювали на підставі електронно-мікроскопічного аналізу епітелію слизової оболонки шлунку. Основна увага приділялась

вивченню слизової оболонки фундального відділу шлунка, оскільки, за даними спеціальної літератури, саме тут розташована найбільша кількість ендокринних клітин, з яких розвиваються карциноїди внаслідок тривалої гіпергастринемії [6, 7].

При електронно-мікроскопічному дослідженні слизової оболонки фундального відділу шлунка контрольних щурів виявляються два основних типи клітин: екзо- та ендокринні клітини. Серед ендокринних клітин можна чітко розрізнити головні, парієтальні та слизові клітини.

Головні клітини містять округле ядро з великою кількістю еухроматину та пристінковим гетерохроматом, добре розвинений білок-синтетичний апарат – гранулярну ендоплазматичну сітку (ЕПС), апарат Гольджі (АГ), а також велику кількість секреторних гранул біля плазмалеми в апікальній частині клітини. Досить розвинений енергетичний апарат клітини – по всій клітині розміщені круглясті та овальні мітохондрії з чіткими трубчастими кристами. На апікальній поверхні клітини зустрічаються короткі мікроворсинки.

Парієтальні клітини містять велику кількість внутрішньоклітинних секреторних каналців і мікроворсинок, що виступають в їх просвіт. У цих клітинах здебільшого світле округле ядро з двома-трьома ядерцями. Також у них помітні розвинена гладенька ЕПС і АГ та овальні, витягнутої форми мітохондрії з трубчастими кристами.

Слизові клітини мають призматичну форму, на апікальній поверхні розташовані мікроворсинки. Ядра щільні, містять компактний хроматин і знаходяться у базальній частині клітини. У цитоплазмі помітний розвинений АГ, гладенька ЕПС, мітохондрії. В апікальній частині клітин містяться гранули секрету.

Ендокринні клітини мають неправильну форму, невелике ядро, розташоване ближче до апікального полюсу клітини, та велику кількість секреторних пухирців, розміщених у центральній та базальній частинах клітини. Між усіма клітинами добре помітні міжклітинні контакти, наприклад, щільні контакти та десмосоми.

Електронно-мікроскопічний аналіз слизової оболонки фундального відділу шлунка щурів, які отримували ін'єкції омепразолу протягом 28 діб, показав, що зміни спостерігаються в усіх шарах слизової: епітелії, власній та м'язовій пластинках, – але характер змін різноспрямований. Так, в *епітеліальному шарі* більша частина клітин зазнають метабластичних перетворень, внаслідок чого важко визначити, до клітин якого типу вони відносилися. Деякі клітини містять велике ядро, що займає більшу частину їх об'єму, та гіпертрофовані ядерця. У цитоплазмі таких клітин значно зменшена кількість органел, а переважають тонофібрили та кератинові філаменти, які формують пучки не тільки у примібральних зонах, а також по всій цитоплазмі. Невелика кількість цих клітин зберігає контакти між собою, але більшість клітин втрачають їх, відокремлюються одне від одного, утворюючи на поверхні мікрровирости. Така субмікроскопічна будова та розташування клітин нагадує епітелій остистого шару епідермісу. Про те, що в слизовій оболонці шлунку відбувається перетворення незроговілого епітелію на зроговілий свідчить також наявність клітин з нагромадженням гранул кератогіаліну у цитоплазмі та ядрі, що характерно для кератиноцитів зернистого шару шкіри. Останнім і найбільш демонстративним підтвердженням зроговівання епітелію шлунку є поява блискучого та рогового шарів. У рогових лусках останнього нагромаджуються, як у епідермісній шкірі, пухирці повітря. Подекуди біля лусок спостерігаються мікроорганізми *Helicobacter pylori*.

Інший характер змін відмічається в клітинах залоз, власної та м'язової пластинки – вони змінюються переважно за темним типом.

Клітини залоз часто втрачають свою специфічні ознаки, стають однотипними, серед них важко розрізнити окремі різновиди. Кількість органел зменшена, у цитоплазмі накопичуються продукти аномального обміну речовин, внаслідок чого електронна щільність клітин зростає. Клітини відокремлюються одне від одного, зменшуються у розмірах, формують на поверхні мікрровирости та інвагінації різної глибини. Такі зміни характерні для клітин, які гинуть шляхом апоптозу.

Подібні зміни спостерігаються у сполучній тканині власної пластинки, де переважають темні клітини без ознак специфічності. Кровоносні мікросудини скрізь мають розширений просвіт, який здебільшого заповнений клітинами крові. Цитоплазма ендотеліоцитів переважно електронно-щільна, важко розрізнити окремі органели – подібно до клітин, описаних вище.

У м'язовій пластинці спостерігається чергування гладеньких міоцитів з помірно електронною щільністю, заповнених переважно фібрилярними структурами та незначною кількістю органел, з темними міоцитами, в яких неможливо диференціювати фібрили та органели.

Рівень гастрину у щурів контрольної групи складає $40,0 \pm 25,1$ пг/мл, а після 28-денного введення омепразолу він зростає до $180,7 \pm 70,1$ пг/мл, або на 351,8%, що вказує на стійку гіпергастринемію у піддослідних щурів.

Проведений аналіз показав, що у щурів, які отримували омепразол, ультраструктурні зміни, які вказують на пошкодження слизової оболонки шлунку, спостерігаються в усіх її шарах. При цьому, в епітеліальному шарі спостерігаються клітини з такими морфологічними ознаками, які свідчать про розвиток пухлинного процесу, наприклад: поява епітеліоцитів з гіпертрофованим ядром, що займає більшу частину об'єму клітини, та гіпертрофованим ядерцем. Найбільш вагомим свідченням пухлинного переродження епітеліоцитів є метаплазія, яка тут полягає у перетворенні стовпчастих епітеліоцитів на типові епідермоцити з формуванням основних

клітинних шарів, властивих епідермісу шкіри. Разом з тим, в інших шарах слизової шлунку посилюються апоптотичні явища. Можна припустити, що це захисна відповідь організму, спрямована проти розвитку пухлини, оскільки відомо, що апоптоз є одним із механізмів спонтанної регресії пухлини.

Висновки. 28-ми денне введення щурам омепразолу в дозі 14 мг/кг спричиняло зростання рівня гастрину на 351,8%, що приводило до суттєвих ультраструктурних змін в слизовій оболонці шлунку, основними ознаками яких є поява епітеліоцитів з гіпертрофованим ядром і ядерцем та метаплазія (перетворення стовпчастих епітеліоцитів на типові епідермоцити з формуванням основних клітинних шарів, властивих епідермісу шкіри). Зроблено висновок про розвиток пухлинного процесу в шлунку на фоні тривалої гіпергастринемії, викликаной омепразолом.

Робота виконана за рахунок коштів гранту Президента України для обдарованої молоді.

1. Sipponen P., Marshall B.J. Gastritis and gastric cancer – western countries // *Gastroenterol. Clin. North Am.* – 2000. – Vol. 29. – P. 579–592.
2. Zanner R., Hapfelmeier G., Gratzl M., Prinz C. Intracellular signal transduction during gastrin-induced histamine secretion in rat gastric ECL cells // *American journal of Physiology Cell.* – 2002. – Vol. 282. – P. 374–382.
3. Song D.H., Rana B., Pradeep A. et al. Gastrin and gastric Cell Groth. In: *Gastrin in the New Millenium*. Ed by J.L. Merchant, A.M.J. Buchan, T.C. Wang. Los Angeles: CURE Foundation, 2004. – P. 299–310.
4. Lee D.Y., Shin H.S., Bae S.K., Lee M.G. Effects of enzyme inducers and inhibitors on the pharmacokinetics of intravenous omeprazole in rats // *Biopharmaceutics & drug disposition.* – 2006. – Vol. 27, № 5. – P. 209–218.
5. Lin H.J., Lo W.C., Cheng Y.C., Perng C.L. Role of intravenous omeprazole in patients with high-risk peptic ulcer bleeding after successful endoscopic epinephrine injection: a prospective randomized comparative trial // *The American journal of gastroenterology.* – 2006. – Vol. 101, № 3.
6. Tari A., Kuruha Y., Yonei Y., Yamauchi R. et al. Effects of omeprazole and pirenzepine on enterochromaffin-like cells and parietal cells in rat stomach // *J Gastroenterology.* – 2001. – Vol. 36, № 6. – P. 375–385.
7. Jalving M., Koornstra J.J., Wesseling J., Boezen H.M. et al. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* – 2006 – Vol. 24. – P. 1341.

Надійшла до редколегії 25.12.06

УДК 591.526

С. Мякушко, канд. біол. наук., М. Степаненко, студ.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗМІРУ ВИВОДКА ДВОХ ВИДІВ ЛІСОВИХ ГРИЗУНІВ

Досліджено розмір виводка особин двох видів гризунів упродовж багаторічної динаміки щільності їх популяцій. Виявлено вікову специфіку індивідуальної плодючості цих тварин та внесок різних генерацій у процеси змін чисельності. Встановлено, що індивідуальна плодючість визначається не тільки фізіологічними особливостями організму тварин певного віку, але й популяційною стратегією в умовах різної щільності населення.

Litter size of two wood rodents species during long-term dynamics density of population have been considered. Age specificity of individual fertility of these animals and different generation contribution in changing magnitude processes have been determined. We have established that individual fertility depends on not only physiological features of the certain age of animal organisms, it also depend on population strategy in conditions different density of populations.

Вступ. Величина енергетичних витрат на розмноження серед окремих особин та успішність їх відтворення є одними з найважливіших параметрів популяційної екології. Основними факторами, що визначають ці показники в популяції є особливості умов середовища існування, вік особин, частота протікання репродуктивних циклів, етологічна структура популяції. Вивчення і плодючості в популяції є специфічними для певного вікового класу тварин та використовуються для визначення швидкості росту популяції. Особливості плодючості окремих вікових класів відображають характер взаємодії особин з оточуючим середовищем, здатність спрямовувати доступні ресурси на розмноження. Досить часто висока плодючість формується в умовах значної смертності та тиску з боку екзогенних факторів, тому її відносна значення опосередковано може бути індикатором умов існування популяції. Доведено, що

показники інтенсивності розмноження, вікової і статевової структури популяції також можна використовувати з метою прогнозування змін чисельності. Саме це й обумовлює актуальність дослідження сукупності показників, які характеризують протікання процесів відтворення.

Метою даної роботи є аналіз процесів розмноження та вікової специфіки індивідуальної плодючості в популяціях двох видів лісових гризунів в умовах різної щільності населення.

Об'єкт та методи досліджень. Результати дослідження базуються на матеріалах спостережень за двома фоновими видами гризунів грабової діброви Канівського природного заповідника: рудою норичею (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780) та жовтогорлого мишака (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834). Відлов тварин, а також визначення щільності населення популяцій (ос/га) здійснювали за допомогою традиційного методу обліку-

вих площадок. Особливості популяційної динаміки щільності та методи відокремлення однорідних вікових груп були наведені в ряді попередніх робіт [2, 4].

Репродуктивний стан особин, ступінь їх залучення до процесів відтворення оцінювали загальноприйнятими методами. На участь в розмноженні самиць вказувала наявність ембріонів або плацентарних плям, самців – маса сім'яників. На підставі наявності ембріонів чи плацентарних плям відокремлювали, відповідно, вагітних особин та тих, що народжували. Кількість ембріонів окремо аналізували для цих двох груп серед тварин різного віку. Для визначення залежності між абсолютним віком особин і розмірами виводка визначали коефіцієнти кореляції (r).

Обробку та оцінку достовірності статистичних даних проводили загальноприйнятими статистичними методами [1]. Для визначення достовірності відмінностей між частками двох різнорозмірних вибірок використовували критерій ϕ^* Фішера [3].

Результати та їх обговорення. Аналіз матеріалу дав змогу констатувати, що частка репродуктивно активних самиць у вибірках особин обох видів є відносно стабільною. Такі дані підтверджуються результатами деяких досліджень [5, 6], але дещо суперечать іншим спостереженням [7]. При виділенні частки самиць, що розмножуються, в однорідних вікових групах були зафіксовані певні відмінності. Характерне для жовтогорлого мишака переважання участі в розмноженні особин двомісячного віку, для рудої нориці спостерігається лише на фазі росту чисельності. Через елімінацію упродовж першої половини весни більшості Perezимувалих особин жовтогорлого мишака, їх репродуктивний потенціал обумовлює лише незначний внесок на початкових етапах річного збільшення чисельності. Крім того, процес росту популяції уповільнюється також незначною кількістю тварин, які доживають до закінчення зими.

Варіювання розміру виводка гризунів тривалий час було об'єктом численних емпіричних і теоретичних досліджень [9, 12, 13]. Їх загальний висновок полягав у тому, що розмір перших трьох приплодів поступово збільшується до досягнення певного максимуму. Після цього часто спостерігається зниження кількості дитинчат у виводку, що не виключає деяких коливань цього показника в подальшому [8, 10]. Роф [11] назвав таку специфічну структуру репродукції "тригранною". Слід відзначити, що такі результати були отримані в основному на підставі лабораторних спостережень або в умовах, коли тварини розмножувалися упродовж всього року, а зимовий період не приводив до припинення репродуктивних процесів. Проведені нами дослідження являють собою спробу встановити вікові особливості розміру виводка в природних умовах у разі відсутності зимового розмноження і наявності зимової елімінації, через що вікова структура популяції стає значно спрощеною.

Аналіз середнього розміру виводка в популяції рудої нориці (табл. 1) здійснювали за кількістю ембріонів, плацентарних плям, а також разом за цими ознаками. Були виявлені відмінності між середніми значеннями загальної

кількості дитинчат у виводку в роки з різною щільністю населення. Останні відмінності характеризувалися високою достовірністю у разі порівняння всіх вибірок ($P < 0,001$). Так для фази депресії чисельності зафіксовано найнижчу середню кількість ембріонів ($4,80 \pm 0,54$), а для фази росту – максимальну ($6,63 \pm 0,32$). Цей факт підтверджує численні літературні дані [5, 6].

При окремому порівнянні кількості плацентарних плям у самок цього виду, відмінностей між аналогічними фазами динаміки чисельності не виявлено. Середня кількість плацентарних плям на фазі росту чисельності значно вища, ніж в інші роки ($P < 0,05$). Схожі дані були отримані у разі аналізу середньої кількості ембріонів. Упродовж фази піка та депресії щільності населення відмінності середніх значень цього показника не достовірні, на відміну від фази росту, коли він є значно вищим, порівняно з іншими етапами багаторічної динаміки.

Таким чином найбільша середня кількість дитинчат (визначена як за плацентарними плямами, ембріонами, так і загалом) спостерігається на фазі росту популяції, коли відбувається поступова інтенсифікація процесів відтворення. Період депресії чисельності, навпаки, характеризується мінімальними значеннями розміру виводка.

Звертає увагу на себе той факт, що розмір виводка, розрахований за кількістю плацентарних плям, в усі роки є більшим, ніж аналогічний показник, отриманий на підставі аналізу кількості ембріонів. Останнє явище свідчить про більшу напруженість відтворення на початку сезону розмноження, що може бути обумовлено порівняно низькою щільністю населення тварин відразу після закінчення зимового періоду.

Достовірний кореляційний зв'язок між розміром виводка і віком особини був виявлений лише для сукупності всіх фаз динаміки щільності населення рудої нориці. Він свідчить про наявність тенденції до зменшення розміру виводка зі збільшенням віку тварини. Проте можна припустити, що така залежність не є лінійною. Наявний матеріал дає змогу встановити лише загальну тенденцію. Не слід виключати, що в інших умовах існування популяції максимальні значення індивідуальної плодючості можуть припадати на ті вікові групи гризунів, які в наших вибірках відсутні з причин вираженої сезонності розмноження.

З метою виявлення специфіки вікових особливостей плодючості рівень аналізу на наступному етапі досліджень був дещо змінений. Для збільшення об'єму вибірки і, відповідно, достовірності отриманих даних, всю сукупність репродуктивно активних самиць рудої нориці було розподілено за двома віковими категоріями: цьогорічок та особин, що Perezимували. Встановлено, що самиці першої категорії характеризуються більшим розміром виводка на всіх фазах популяційного циклу, крім фази росту чисельності. Упродовж останньої фази плодючість різновікових тварин суттєво не відрізняється. Це надає підстав стверджувати, що індивідуальна плодючість у гризунів визначається не тільки фізіологічними особливостями організму тварин певного віку, але й популяційною стратегією в умовах різної щільності населення.

Таблиця 1. Середній розмір виводка рудої нориці та жовтогорлого мишака упродовж різних фаз динаміки щільності населення

Вид	Розмір виводка, визначений за кількістю ($n \pm m$)	Рік (фаза динаміки щільності)		
		2002 (пік)	2003 (депресія)	2004 (ріст)
Руда нориця	плацентарних плям	$5,33 \pm 0,57$	$5,33 \pm 0,71$	$7,29 \pm 0,51$
	ембріонів	$5,10 \pm 0,42$	$4,00 \pm 0,87$	$6,22 \pm 0,37$
	середнє значення	$5,19 \pm 0,34$	$4,80 \pm 0,54$	$6,63 \pm 0,32$
Жовтогорлий мишак	плацентарних плям	$5,00 \pm 0,45$	$6,50 \pm 0,69$	$4,00 \pm 0,76$
	ембріонів	$4,25 \pm 0,35$	-	$5,00 \pm 0,21$
	середнє значення	$4,63 \pm 0,30$	$6,50 \pm 0,69$	$4,25 \pm 0,61$

У таблиці 1 також наведені середні значення розміру виводка жовтогорлого мишака упродовж різних років спостережень. Добре помітні відмінності від аналогічних показників попереднього виду. В даному випадку найбільші значення зафіксовано на фазі депресії щільності. Звертає на себе увагу і той факт, що індивідуальна плодючість обох видів майже не відрізняється, якщо аналізувати усю сукупність років. Останнє дещо відрізняється від спостережень у попередній період <http://berloga.net/view.php?id=2999> (1980–2000 pp.), коли розмір виводка у мишака в середньому був менший, ніж протягом останніх п'яти років. Можливо саме це дозволило цьому виду зайняти на певний час місце субдомінанта в угрупованні лісових гризунів грабової діброви заповідника.

Індивідуальна плодючість самиць жовтогорлого мишака зменшується з віком особин, а найбільший внесок у збільшення чисельності створюють тварини другої вікової генерації. Спільною рисою для обох видів є в середньому більш великий розмір виводка, що розрахований за кількістю плацентарних плям. Тобто перші репродукції цих гризунів, які припадають на весняний період є численнішими, порівняно з наступними. Припускати в даному випадку вплив зростання щільності популяції у післязимовий період навряд чи правомірно, оскільки вона ніколи не досягає таких значень, які здатні обумовити негативні явища перенаселення. Проте неможна виключати вплив на ці процеси порівняно високої щільності популяції інших видів гризунів.

Висновки. Виявлено, що для популяцій двох видів лісових гризунів на різних фазах динаміки чисельності характерна відносно стабільна частка особин, що приймають участь у розмноженні. При цьому в руді норичі вона є дещо більшою, ніж у жовтогорлого мишака, хоча індивідуальна плодючість їх самок упродовж досліджуваних років відрізняється незначно.

Визначено, що розміри виводка у самиць цих видів зменшується з віком особин. Найбільший внесок в процеси відтворення створюють тварини-цьогогорічки молодших вікових класів, хоча його величина варіює в різні роки. Встановлено, що індивідуальна плодючість у гризунів визначається не тільки фізіологічними особливостями організму тварин певного віку, але й популяційною стратегією в умовах різної щільності населення.

1. Лакін Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1987. – 352 с.
2. Мякушко С.А., Степаненко М.А. // Праці теріологічної школи. – 2006. – Вип. 8. – С. 86–90.
3. Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии. – СПб.: Речь, 2001. – 350 с.
4. Степаненко М.А. Зміни вікової структури популяцій та краніометричних показників особин двох видів лісових гризунів // Молодь і поступ біології. 36. тез II міжнарод. наук. конф. студентів та аспірантів. Львів, 2006. – Л., 2006.
5. Тупикова Н.В. Методы изучения природных очагов болезней человека. – М.: Медицина, 1964. – С. 154–191.
6. Шилов И.А. Эколого-физиологические основы популяционных отношений у животных. – М.: Изд-во МГУ, 1977. – 21 с.
7. Bujalska G. Acta theriol. – 1970. – Vol. 15, № 3. – P. 225–234.
8. Hasler J.F. The Biologist. – 1975. – Vol. 57 – P. 52–86.
9. Mappes T., Koskela E. Evolution. – 2004. – Vol. 58, № 3. – P. 645–650.
10. Negus N.C., Pinter A.J. // J. Mammal. – 1965. – Vol. 46. – P. 434–437.
11. Roff D.A. The evolution of life histories: theory and analysis. – N-Y: Chapman and Hall, 1992. – 345 p.
12. Tkadlec E., Krejčova P. // J. Mammal. – 2001. – Vol. 82, № 2 – P. 545–550.
13. Ylonen H. // Trends Ecol. Evol. 1994. – Vol. 9. – P. 426–430.

Надійшло до редколегії 21.12.06

УДК 573.9

П. Лещенко, студ., І. Новікова, асп.,
Т. Паршикова, д-р біол. наук, І. Посудін, д-р біол. наук

РУХЛИВІСТЬ КЛІТИН *EUGLENA GRACILIS* KLEBS. НА РІЗНИХ СТАДІЯХ РОЗВИТКУ В ПРИСУТНОСТІ ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМУ

Досліджувався вплив шестивалентного хрому на швидкість фоторуху та механізми фототопотаксису клітин Euglena gracilis. Встановлено, що при несприятливих умовах докілья реалізація стратегій виживання мікроводоростей залежить не тільки від зовнішніх факторів довкілля, але й від процесу становлення системних відносин (на рівні метаболізму) в їх популяції.

Investigate influence of six-valent chrome on speed mobility that machinery phototopotaxis cells Euglena gracilis. It is proved, that under adverse conditions of an environment realization of life microseaweed depends not only on external factors of environment but also from process of becoming of system attitudes (at a level metabolism) in their populations.

Вступ. Антропогенне забруднення навколишнього середовища стає визначальним фактором дестабілізації біологічних систем різного рівня організації. Вважають [1], що рівень стійкості мікроскопічних водоростей, як основних первинних продуцентів органічних речовин та кисню в водних екосистемах, є основним інтегральним показником функціонального стану живих клітин, характеризуючи їх можливість протистояти дії зовнішніх екстремальних факторів довкілля.

Відомо, що стічні води багатьох підприємств України – металургійних, машино- і приладобудівних, автомобільних тощо містять високотоксичні сполуки шестивалентного хрому Cr(VI). Наприклад, при виробництві СД-дисків для комп'ютерів формуються стічні води з високим вмістом металів: Ni^{+2} 0,1–10,0; Cr^{+3} 0,1–25,0; Cr^{6+} 0,1–25,0; Zn^{+2} 0,1–50; Al^{+3} 1,0–200; Fe^{+3} 1,0–500 мг/л. В зв'язку з цим максимальні концентрації цих речовин в багато разів перевищують гранично допустимі рибгосподарські концентрації для цих металів: Cr^{+3} 0,2–50; Cr^{6+} 2–5000; Fe^{+3} 2–1000; Ni^{+2} 10–1000; Al^{+3} 2–400; Zn^{+2} 10–5000 разів [3]. Як відомо, саме водні організми вимушені першими визначати якість води.

Для оцінки токсичності хімічних інгредієнтів в процесі біотестування водного середовища використовують різноманітні тест-об'єкти: бактерії, водорості, найпростіші, безхребетні організми тощо. Зручним модельним організмом для біотестування є й високосапробна рухлива одноклітинна зелена водорість з родини *Euglenophyta* – *Euglena gracilis* Klebs [2].

Вважають, що дослідження особливостей фоторуху водоростей може допомогти при визначенні диференціальних критеріїв оцінки якості води для різних рівнів її забруднення. Значний інтерес біотестування, як достатньо чутливий й досить швидкий метод, становить для використання в еволюційній біології, екології, прикладній альгології, а також при рішенні проблем біомоніторингу навколишнього середовища.

Метою нашої роботи була оцінка параметрів фоторуху клітин *Euglena gracilis* Klebs., що знаходилися на різних стадіях розвитку, при додаванні зростаючих концентрацій шестивалентного хрому.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідах використовувалась бактеріально чиста культура *Euglena gracilis* Klebs, яка була отримана з Центральної Національної

лабораторії (Італія). Культуру водоростей вирощували на селективному поживному середовищі Громова № 6, при температурі $20 \pm 2^\circ\text{C}$ та освітленні $6,6\text{--}7,4\text{ Вт/м}^2$ (тривалість світла й темряви – 12 / 12 год).

Шестивалентний хром додавали в суспензію водоростей у вигляді $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ через 1, 7, 21 та 28 діб розвитку клітин, що відповідало логарифмічній (1-7 доба) та стаціонарній (починаючи з 13 доби) фазам росту культури. Фізіологічні стадії росту клітин визначались мікроскопічно. Експериментальні виміри фізіологічних показників проводили через 1 добу контакту клітин, які знаходились на різних стадіях росту, з хромом у відповідних концентраціях. В експерименті були використані концентрації Cr(VI) : 0,05 (гранично допустима), 15, 45, 75, 105, 135 мг/л.

Підрахунки кількості клітин водоростей здійснювали за допомогою камери Горяєва на мікроскопі МБІ-6. Контроль пігментного комплексу водоростей здійснювали методом диференціальної флуориметрії з використанням Planctofluorometer FL300 3M [5]. Швидкість руху клітин (V) та фототопотаксис (F) визначали на експериментальній установці кафедри біофізики Національного аграрного університету [4]. Кількісну оцінку фототопотаксису проводили за допомогою параметру $F = n_l - n_t / n_l + n_t$; де n_l та n_t – кількість клітин, що рухались на екрані відеосистеми в

напрямку джерела світла та від нього відповідно протягом певного часу. Повторність дослідів – 3–10-кратна.

Математичне опрацювання одержаних результатів здійснювали з використанням методів статистичного аналізу. Висновки робили за допомогою критерію Стьюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$.

Результати та їх обговорення. Оцінку особливостей реакції клітин водорості на присутність різних концентрацій хрому в поживному середовищі проводили з врахуванням стадій росту організму, зокрема на логарифмічній та стаціонарній (рис. 1). Як видно з рис. 1, швидкість руху *Euglena* при внесенні в середовище 0,05 мг/л хрому навіть збільшувалась. При підвищенні концентрації хрому до 15 мг/л й вище швидкість руху суттєво знижувалась. На стаціонарній фазі росту (рис. 1) швидкість руху *Euglena* як в контролі, так і особливо при внесенні хрому в поживне середовище навіть в невисокій концентрації зменшувалась більш істотно порівняно із стадією логарифмічного росту. Важливо відмітити, що на стаціонарній фазі росту водорості повністю припиняли свій рух вже при концентрації хрому 75 мг/л. Це, можливо, можна пов'язати з тим, що при збільшенні кількості клітин на стаціонарній фазі росту рухливість може пригнічуватись й внаслідок аномально високої їх кількості.

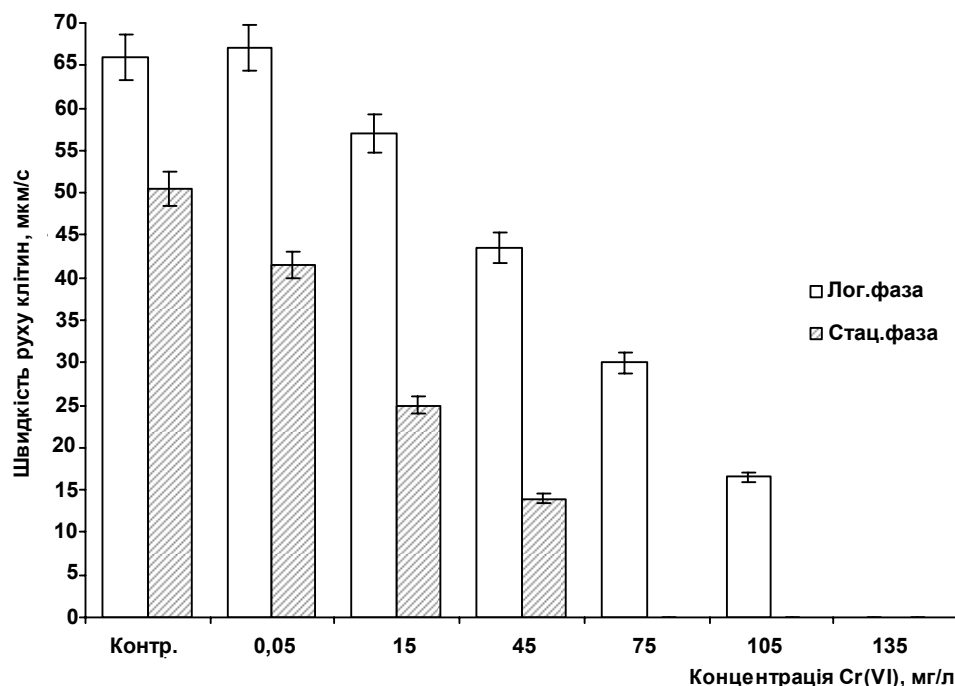


Рис. 1. Швидкість руху клітин *Euglena gracilis* залежно від стадії розвитку

Особливо істотні зміни при внесенні хрому в поживне середовище спостерігались при реєстрації фототопотаксису клітин. На логарифмічній фазі росту мав місце негативний фототопотаксис, а на стаціонарній – позитивний. На думку фахівців [6], зміна знаку фототопотаксису водорості може бути пов'язана з тим, що в цьому випадку починає працювати модуляційний механізм, який сприяє періодичному затіненню фоторецептора (параджгутикового тіла) стигмою.

Ураховуючи, що *Euglena* відноситься до високосапробних водоростей та організмів, що швидко розмножуються спорами, виникає питання про можливість адаптації клітин до хрому, або його нейтралізації за рахунок комплексування або сорбції, окислення чи інших процесів. В зв'язку з цим нас зацікавили зміни хлорофільного показника в клітинах водоростей залежно від стадії розвитку клітин та концентрації хрому. На під-

ставі одержаних даних (рис. 2) ми змогли отримати відповідь на питання, чи залишались клітини живими при контакті їх з хромом. Токсичність шестивалентного хрому збільшувалася послідовно зі зростанням концентрації, але клітини залишались живими, зберігали здатність до синтезу хлорофілу й при найбільшій дослідній концентрації (135 мг/л). На логарифмічній стадії росту при концентрації хрому 15 мг/л реєструвалось падіння вмісту хлорофілу на 35%. При найбільшій дослідній концентрації 135 мг/л спостерігалось пригнічення біосинтезу хлорофілу вже на 80%. Для стаціонарної стадії росту клітин *Euglena* при концентрації хрому 15 мг/л фіксується падіння вмісту хлорофілу лише на 15%, а при максимальній відповідно на 84%. Отже, можна зазначити, що високосапробна зелена водорість залишається стійкою до зростаючих концентрацій найбільш токсичної форми – шестивалентного хрому.

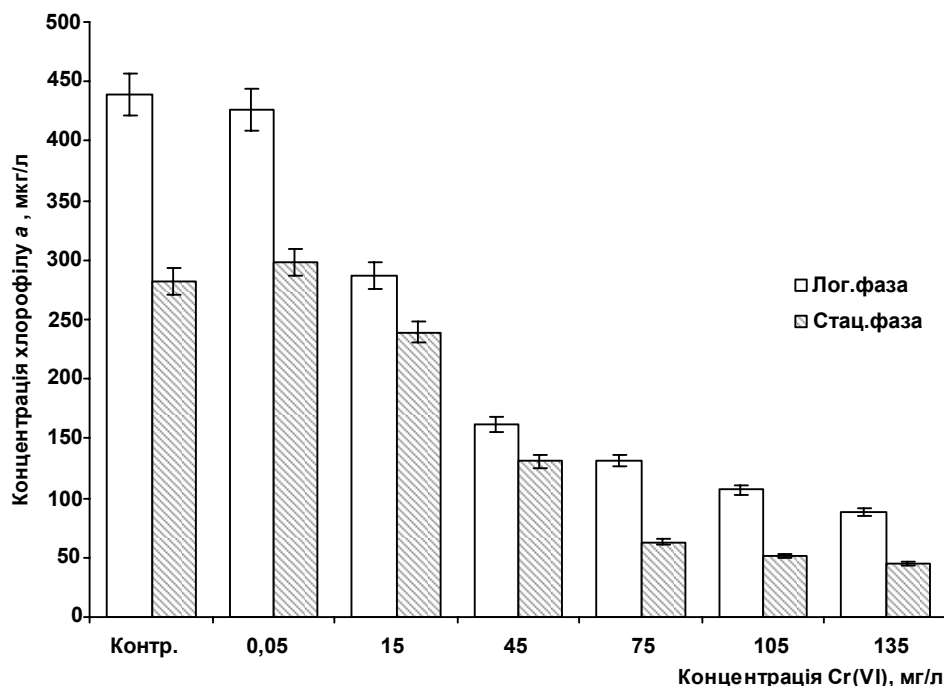


Рис. 2. Зміни концентрації хлорофілу а у *Euglena gracilis* під дією зростаючих концентрацій $K_2Cr_2O_7$

Цей висновок можна підтвердити й отриманими даними по визначенню потенціальної фотосинтетичної активності (ΔF). На логарифмічній стадії росту спостерігається пригнічення фотосинтетичної активності від 50 (для концентрації 45 мг/л) до 80% (для 135 мг/л). Для стаціонарної відповідно – від 30% (для 45 мг/л) до 57% (для 135 мг/л).

Як видно з рис. 3 внесення хрому в поживне середовище по-різному впливало на кількість клітин в поживному розчині. Для логарифмічної стадії росту реєструвалось зменшення кількості клітин порівняно з контролем від 30% (для 15 мг/л) до 60% для максимальної концент-

рації – 135 мг/л. Для стаціонарної стадії росту клітин *Euglena* при додаванні менших дослідних концентрацій (0,05 та 15 мг/л) реєструвалось підвищення кількості клітин відповідно на 45 та 80%. Це, на нашу думку, може свідчити про те, що хром використовувався як мікроелемент, необхідний для розвитку клітин. При подальшому зростанні діючих концентрацій хрому на стаціонарній фазі росту кількість клітин *Euglena* майже не змінювалась. Лише при максимальній діючій концентрації хрому спостерігалось зниження кількості клітин до 30%.

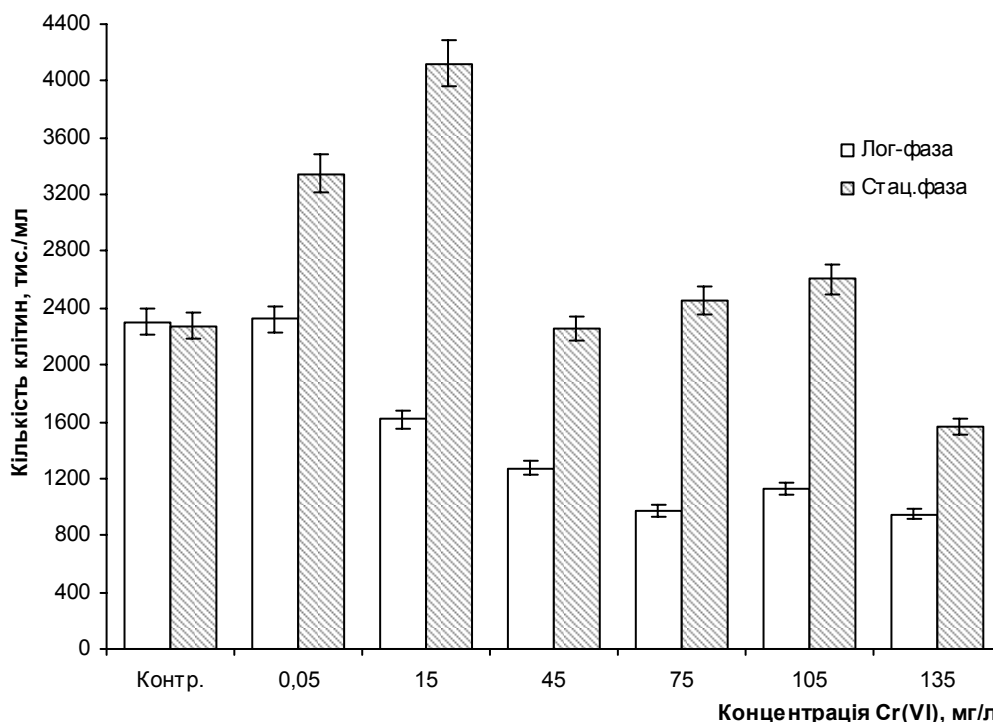


Рис. 3. Вплив $K_2Cr_2O_7$ на чисельність клітин *Euglena gracilis*

Висновки. Підводячи підсумки викладеному вище, можна зазначити, що досліджені реакції клітин *Euglena gracilis* Klebs. на токсичність зростаючих концентрацій шестивалентного хрому свідчать, що стійкість водорості залежить від комплексу факторів, найважливішим з яких є стан організму в момент дії токсиканту. На логарифмічній стадії росту чутливість клітин до токсичності хрому проявляється сильніше. На стаціонарній стадії росту припинення рухливості клітин спостерігається при значно менших концентраціях хрому. Це може свідчити про існування інших пригнічуючих рухливості клітин факторів, якими можуть бути, наприклад, метаболіти, що виділяються іншими клітинами або нестача того чи іншого поживного елементу. Встановлена концентрація шестивалентного хрому при якій спостерігається пригнічення 50% клітин, це 45 мг/л (ЛД₅₀). При всіх використаних в експерименті концентраціях шестивалентного хрому (від 0,05 до 135 мг/л) клітини *Euglena gracilis* залишались живими й зберігали здатність до синтезу хлорофілу. Отже, можна зазначити, що інтервал порогових концентрацій (ІПК) токсичних речовин (наприкладі шестивалентного хрому) може бути критерієм адаптаційного потенціалу клітин різного систематично-

го рівня при хронічному впливі певного токсиканту, показником стійкості та чутливості популяцій цих клітин в природі до різних токсичних сполук, а також специфічності дії останніх на внутріклітинні процеси. Оцінка порогу чутливості клітин дозволяє розрахувати екологічно допустиму концентрацію токсиканту, яка дозволить зберегти життєздатність природної популяції будь-якого організму при конкретному рівні чисельності. Збільшення ІПК в процесі формування популяції в природі буде свідчити про підвищення її адаптаційного потенціалу.

1. Галочка Л.Д. Об адаптации водорослей. – М., 1981. 2. Данилов Р.А., Нильс Г.П., Екелунд А.Д. Адаптация фотосинтетического аппарата *Euglena gracilis* к условиям различной концентрации токсических веществ // Альгология. – 2000. – № 3. – С. 244–249. 3. Калиниченко К.П. Оценка токсичности солей некоторых металлов методом бактериального тестирования // Биология. – 2005. – № 3. – С. 190–192. 4. Масюк Н.П., Посудин Ю.И., Лилицкая Г.Г. Фотодвижение водорослей: сравнительно-систематический аспект // Альгология. – 2006. – № 1. – С. 16–36. 5. Паршикова Т.В., Сиренко Л.А., Щеголева Т.Ю., Колесников В.Г. Экспресс-контроль роста и физиологического состояния микроводорослей // Альгология. – 2001. – № 3. – С. 403–413. 6. Hader D., Colombetti G., Lenci E. Phototaxis in the Flagellates, *Euglena gracilis* and *Ochromonas donica* // Microbiologia. – 1981. – № 14. – P. 31–40.

Надійшла до редколегії 20.12.06

УДК 575.224.46

О. Проніна, інж., В. Безруков, канд. біол. наук

ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТУ РІЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СКЛАДУ НА ДРІЖДЖІ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Вивчали летальну та рекомбіногенну дію УФ С та повного УФ спектру (А, В, С) та видимого світла на клітини штаму *Saccharomyces cerevisiae* з дефектним геном ексцизійної репарації *rad2*. Виявлено відмінності в виживаємості та частоті мітотичного кросингверу в залежності від спектру УФ випромінювання.

Lethal and recombinogenic effects of UV C and full spectrum (UV A, B, C and visible light) radiation on excision repair deficient strain (gene *rad2*) of *Saccharomyces cerevisiae* cell were analyzed. It was revealed differences in surviving and mitotic crossing-over rate in irradiated cells depending on UV spectrum.

Вступ. Ультрафіолетове випромінювання є мутагеном з відомими механізмами пошкодження ДНК та їх репарації [4]. Максимальною мутагенною та летальною дією характеризується УФ-проміння з найменшою довжиною хвилі (УФ С). УФ з довгохвильової частини спектру (УФ А) в певних дозах може бути сприятливим для живих організмів, оскільки сприяє фотореактивації (репарації ДНК) та синтезу вітаміну Д. У природних умовах на організм одночасно впливає інфрачервоне, видиме світло та довгохвильовий УФ А. Крім УФ А до поверхні Землі доходить частина короткохвильового УФ В, який негативно впливає на організм, викликаючи опік, та підвищуючи нестабільність геному. Сумарний ефект залежить від співвідношення цих складових та загальної дози опромінення. При цьому основним є питання про модифікацію дії короткохвильового УФ одночасним впливом інших частин УФ спектру. Метою даної роботи було порівняння летальної та рекомбіногенної дії двох типів УФ-опромінювання – виключно УФ С та УФ випромінювання повного спектрального складу.

Об'єкт і методи дослідження. У роботі використано 2 лампи: БУВ-15 та ДРК-120. Лампа БУВ-15 випромінює УФ з довжиною хвилі 254 нм (лінійчатий спектр). Потужність лампи 15 Вт. Лампа ДРК-120 – ртутно-кварцева лампа надвисокого тиску, дає повний спектр УФ та видиме світло. Вимірювання інтенсивностей падаючого світлового потоку проводили за допомогою спектрорадіометру СРП-86.

У роботі використовували штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* T2 [1], люб'язно наданий С.В. Ковальцовою (Лабораторія генетики еукаріот

Санкт-Петербурзького інститута ядерних досліджень РАН). Генотип штаму: *a/α ade2-192/ade2-G45 rad2/rad2*. Мутація *rad2* блокує інцизію – перший етап ексцизійної репарації ДНК, внаслідок чого клітини стають дуже чутливі до ультрафіолетового опромінення [3]. До генотипу штаму введено генетичні маркери які дозволяють проводити визначення частоти мітотичного кросингверу на ділянці XV хромосоми. Аллелі *ade2-192* (надає колоніям червоний колір) та *ade2-G45* (надає колоніям рожевий колір) є комплементарними, внаслідок чого колонії гетероалельного диплоїда є білими та аденін-незалежними. Мітотичний кросингвер призводить до появи мозаїчних за *ade2* мутацій сестринських ядер, що визначають за появою секторних червоно-рожевих або біло-червоно-рожевих колоній. Крім секторних колоній вище зазначених типів в розсіві можлива поява червоних, рожевих або біло-червоних, біло-рожевих колоній. До їх появи може призводити загибель однієї з кросоверних клітин після мітотичного кросингверу, делеції, генні мутації, порушення розходження хромосом та ін. Всі події, які призводять до появи кольорових колоній в розсіві T2, автори штаму поєднують як індуковану мітотичну сегрегацію і використовують її частоту для характеристики рівня порушень в генетичному апараті клітини разом з частотою мітотичного кросингверу.

Опромінення клітин та подальші процедури проводили за стандартною методикою [2] з деякими модифікаціями. Триденну культуру клітин штаму змивали дистиллятом з поверхні твердого поживного середовища YPD. Суспензію центрифугували 5 хвилин з швидкістю 1000 об/хв (ротор РУ 180Л). Верхню частину

супернатанту (близько половини загального об'єму), що являла собою моноклітинну суспензію, переносили до іншої пробірки. За допомогою камери Горяєва визначали концентрацію клітин у суспензії та доводили її до 10^6 кл/мл.

Цією суспензією засівали 5 чашок з розрахунку 200 клітин на чашку (контроль). Після цього 4 мл суспензії опромінювали у стандартній чашці Петрі. Через кожні 30 сек опромінення відбирали частину суспензії та висівали на 5 чашок таким чином, щоб кількість виживших клітин на чашці дорівнювала 200 (визначення коефіцієнтів розведення проводили у заздалегіть проведеному досліді). Часові проміжки опромінення становили 30, 60, 90, 120, 150, 180 та 210 секунд. Для запобігання фотореактивації працювали з опроміненою суспензією при тьмяному світлі, висіяні клітини вирощували в темряві. Після 5-денної інкубації при 30°C рахували кількість колоній, що вирости на чашках та кількість кольорових колоній різних типів серед них.

Вживаємість клітин у контролі приймали за 100%, виживаємість опромінених клітин для кожної дози визначали як процентне співвідношення кількості колоній, що вирости після опромінення даною дозою, до загальної кількості колоній, що вирости у контролі, з урахуванням коефіцієнту розведення. Частоту мітотичного кросинговеру визначали як процентне співвідношення кількості секторних рожево-червоних та біло-рожево-червоних колоній до загальної кількості колоній на чашках, частоту мітотичної сегрегації визначали як процентне співвідношення кількості кольорових колоній до загальної кількості колоній на чашках.

Кожен дослід повторювали не менше як 3 рази, обчислені показники виживаємість та частоти мітотичного кросинговеру усереднювали з урахуванням кількості колоній (середньозважене) та обчислювали стандартну похибку середнього.

Результати та їх обговорення. Спектрорадіометр СРП-86 дає змогу реєструвати інтенсивність світлового потоку окремо для кожного УФ діапазону (А, В та С) та сумарного потоку видимого світла. Виміри інтенсивності падаючого потоку обох ламп проводили для кількох відстаней від джерела опромінення (від 0,145 до 2,3 м для лампи ДРК-120 та від 0,5 до 2,3 м для лампи БУВ-15). Для 0,145, 0,5, 1 та 1,5 м було отримано дані по інтенсивності падаючого потоку лампи ДРК-120 з світлофільтрами УФС1, УФС2 та СФ1. Згідно з вимірами, лампа ДРК-120 випромінює УФ усіх діапазонів та видиме світло, при застосуванні світлофільтрів співвідношення між їх інтенсивностями змінюється (дані не наведені). Майже все випромінювання лампи БУВ-15 припадає на УФ С діапазон, на відстанях 0,5 та 1 м між опромінювачем та поверхнею реєстрували також слабе випромінювання в УФ В (1% від інтенсивності УФ С) та УФ А (1%) діапазонах, видиме світло випромінюється на рівні 3%.

Оптимальні умови опромінення клітин підібрали в серії дослідів, в яких змінювали спочатку відстань між лампою та опромінюваною поверхнею, а потім часові проміжки обробки. З урахування отриманих даних по виживаємість клітин опромінення проводили на відстані 2,3 м. Інтенсивність падаючого УФ С потоку обох ламп за умов опромінення, застосованих у досліді, співпадала і становила $0,21\text{ Вт/м}^2$, але у спектрі випромінювання лампи ДРК-120 були присутні складові УФ В ($0,06\text{ Вт/м}^2$), УФ А ($0,08\text{ Вт/м}^2$) та видимого світла ($0,13\text{ Вт/м}^2$). Оскільки інтенсивність падаючого УФ С потоку обох ламп за умов опромінення, застосованих у досліді, співпадала, необхідність вирівнювання доз УФ С ультрафіолету (підбір часових проміжків обробки або застосуванням світлофільтрів) відпала.

Отримані в досліді показники виживаємість клітин та частоти мітотичного кросинговеру та мітотичної сегрегації наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Вживаємість, частота мітотичного кросинговеру та мітотичної сегрегації в клітинах штаму T2 дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, опромінених УФ лампами ДРК-120 та БУВ-15. Для лампи ДРК-120 дози випромінювання наведено для повного УФ спектру та в дужках для УФ С

Доза УФ (УФ С) Дж/м ²	Кількість проаналізованих колоній	Ig виживаємість %	Частота мітотичної сегрегації, %	Частота мітотичного кросинговеру, %
ДРК-120				
0,00	3178	2,00	0,09±0,13	0,00
10,50 (6,30)	2670	1,93±0,09	1,23±0,42	0,04±0,00
21,00 (12,60)	3810	1,88±0,11	1,96±0,15	0,10±0,09
31,50 (18,90)	3120	1,77±0,15	2,26±0,48	0,26±0,23
42,00 (25,20)	3375	1,65±0,16	3,92±0,89	0,33±0,22
52,50 (31,50)	2231	1,48±0,04	4,37±1,13	0,54±0,09
63,00 (37,80)	2177	1,22±0,11	5,80±0,44	0,51±0,07
73,50 (44,10)	2393	0,93±0,31	5,87±2,66	0,29±0,10
БУВ-15				
0,00	3420	2,00	0,06±0,07	0,00
6,30	2676	1,91±0,06	0,61±0,42	0,07±0,06
12,60	2347	1,85±0,04	1,99±1,20	0,21±0,30
18,90	3448	1,71±0,11	3,28±0,30	0,32±0,17
25,20	3799	1,53±0,10	4,14±0,78	0,61±0,45
31,50	2786	1,22±0,07	5,60±0,46	0,47±0,32
37,80	3243	1,00±0,24	6,29±0,77	0,52±0,33
44,10	2220	0,67±0,12	7,03±0,35	0,59±0,38

Вживаємість в залежності від дози УФ С промінів обох ламп є досить близькою, але зменшення частка життєздатних клітин, опромінених світлом лампи ДРК-120, відбувається дещо повільніше, причому ця різниця зростає з дозою. Таку ж тенденцію виявляють і залежності частоти мітотичного кросинговеру від дози УФ С, при цьому максимальний рекомбіногенний ефект викликає доза 25,20 Дж/м² для лампи БУВ-

15 ($0,61\pm0,45\%$) та доза 31,50 Дж/м² УФ С діапазону лампи ДРК-120 ($0,54\pm0,09\%$). Частота мітотичної сегрегації є також приблизно однакова при опроміненні обома лампами. При максимальних дозах опромінення лампою ДРК-120 вона сягає $5,87\pm2,66\%$ та $7,03\pm0,35\%$ – при опроміненні лампою БУВ-15.

Зменшення летального та рекомбіногенного ефекту УФ С, що реєструється при одночасній дії ультрафіолету

В та А діапазонів і видимого світла (умови опромінення лампою ДРК-120) можна пояснити кількома причинами. По-перше, можливо, що це вплив процесу фотореактивації, який ініціюється променями УФ А діапазону та видимим світлом. Згідно з вимірами інтенсивностей падаючого потоку, на УФ А діапазон та видиме світло припадає відповідно близько 23 та 27% від загального світлового потоку лампи ДРК-120. Водночас ці ділянки спектру фактично відсутні в спектрі лампи БУВ-15. По-друге, можна припустити існування різниці в розподілі інтенсивностей випромінювання в межах самого УФ С діапазону між лампами. Можливо, що в данному випадку наявне неспівпадання в потужності випромінювання ультрафіолету з довжиною хвилі біля 260 нм. Однак, наростання різниці між показниками виживання клітин з зростанням дози свідчить на користь першої гіпотези. Обрати одну з цих гіпотез можна лише після додаткових досліджень.

УДК 599.462

Висновок. У результаті проведеного дослідження встановлено пом'якшуючий ефект видимого світла та довгохвильового ультрафіолету на летальну та рекомбіногенну дію УФ С

Роботу було виконано в межах програми "Захист генотипу та імунної системи населення України".

Автори висловлюють подяку співробітникам Інституту медицини праці за допомогу у проведенні вимірів інтенсивностей падаючого світлового потоку УФ випромінювачей.

1. Захаров І.А., Ковальцова С.В., Марфин С.В. Штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для изучения индуцированного мутагенеза и рекомбинации // Генетика – 1979. – Т. 15, N 1. 2. Захаров І.А., Кожин С.В., Кожина Т.А., Федорова І.В. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромикетов – Л., 1984. 3. Prakash L., Prakash S. Excision repair genes of *Saccharomyces cerevisiae*. // Annali dell Istituto Superiore di Sanita. – 1989. – N 25. 4. Sinha R., Hader D. UV-induced DNA damage and repair: a review// Photochem. Photobiol. Sci. – 2002. – N 1 – P. 225–236.

Надійшла до редколегії 15.09.06

А. Голенко, студ., І. Дзеверін, канд. біол. наук,
С. Мякушко, канд. біол. наук

ОСОБЛИВОСТІ ЖИВЛЕННЯ ТА ЗИМІВЛІ КОЖАНА ПІЗЬНОГО (*EPTESICUS SEROTINUS*) У ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ ПРОТЯГОМ РОКУ

Досліджено особливості живлення та зимівлі кожана пізнього у лабораторних умовах, а також наведена методика утримання виду у неволі. Аналіз відомостей за 1998-2006 рр. дозволив визначити закономірності динаміки інтенсивності живлення особин та втрати маси тіла протягом гібернації, а також прогнозувати причини передчасного припинення сплячки. Розроблено методику утримання кожана, яка може бути успішно застосована до екологічно близьких видів рукокрилих, в тому числі рідкісних.

*The aspects of nutrition and hibernation of *Eptesicus serotinus* in laboratory conditions were studied with the help of complex method of bats keeping ex situ. The data were collected during 1998–2006 years. The main features of dynamics in nutrition of individuals, losing of mass during hibernation and possible causes of contravention of hibernation were revealed. Developed method can be used for keeping of bat species with similar ecological characteristics.*

Вступ. Одним з проблематичних періодів для особин усіх видів тварин, що мешкають у помірних широтах та північніше від них, є зимівля. Її успіх забезпечується виникненням механізмів, призначених для підвищення стійкості особин до впливу низьких температур, вкорочення світлої частини доби, нестачі кормів тощо. Стратегію переживання цього періоду кожним видом визначають наявність взимку кормової бази та здатність швидко пересуватися на великі відстані. Серед хребетних, що не здатні повноцінно жити в умовах палеарктичної зими, переважають рибоїдні та комахоїдні птахи, всі амфібії та рептилії, а також деякі ссавці (в основному – комахоїдні, рукокрилі та декілька видів гризунів і хижих). Таким чином, птахи у більшості випадків мігрують чи кочують, а всі інші групи здебільшого впадають у стан гібернації, заціпеніння або зимового сну. Окрім деяких винятків, у стан гібернації протягом зимового періоду впадають і рукокрилі України, зокрема кожани пізній.

Для накопичення необхідного для зимової сплячки запасу енергії кажани інтенсивно живляться протягом другої частини літа та осені, після чого розміщуються у зручних для зимівлі схованках (найчастіше – печерах та спорудах) і залишаються там до настання перших теплих днів. За оптимальних умов весь цей час вони проводять у повному спокої, без істотної рухової активності. Натомість, у реальних природних зимувальних схованках тварини часто переходять до активного стану під впливом фізичного турбування, змін температури тощо. Це призводить до порушення гібернації, надмірних витрат енергії та, як наслідок, загибелі певної частини особин [1, 4]. Наші попередні дослідження показали, що у деяких випадках рукокрилі можуть виявляти

високу стійкість до негативних впливів протягом зимівлі. Отже, дослідження реакції кажанів на зовнішні впливи під час гібернації, а також більш повне вивчення процесів життєдіяльності різних видів є важливим як для розуміння біології цих тварин, так і для охорони рідкісних та зникаючих видів рукокрилих.

Крім того, проведені дослідження дозволили вдосконалити та відпрацювати методику утримання рукокрилих у лабораторних умовах, що є початковим етапом розробки методики розведення рідкісних видів кажанів. Довготривале утримання великої кількості особин було покладене в основу вивчення особливостей динаміки інтенсивності живлення кожана пізнього протягом періоду літньої активності, а отримані результати доповнили існуючі відомості про зміни активності цих тварин протягом року.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом даних досліджень став широко розповсюджений на території України синантропний вид – кожани пізній, *Eptesicus serotinus* (Schreber, 1774). Синантропність та продовження розширення ареалу цього виду на північ пов'язані з його екологічною пластичністю. Особин пізнього кожана порівняно легко утримувати в неволі, і вони можуть бути модельними об'єктами при дослідженні механізмів адаптації рукокрилих до несприятливих умов. Важливою є відсутність сезонних міграцій у природних умовах, що дозволяє вивчати зимівлю *E. serotinus* у неволі [6, 7]. Висока щільність популяції кожана у м. Києві забезпечила можливість отримання потрібної кількості особин без проведення відловів біля колоній чи схованок. За всю історію Центру реабілітації рукокрилих, на базі якого проводили спостереження, у лабораторії утримували

© Голенко А., Дзеверін І., Мякушко С., 2007

близько 50-ти тварин. Крім того, актуальність даних досліджень зростає у зв'язку з тим, що поряд з *E. serotinus* на території України зустрічаються два рідкісних види (*Vespertilio murinus* та *E. nilssonii*), які є екологічно близькими до пізнього кажана. Отже, вивчення особливостей цього виду є також цінним для розробки методик можливого утримування та розведення у неволі близьких до нього видів.

Пізній кажан крупніший, ніж більшість інших представників підряду Microchiroptera (довжина тіла становить 60–81 мм, а маса варіює від 25–32 г восени до 15–20 г навесні). Вихідними біотопами є гірські масиви з лісистими схилами [1], де кажани цього виду тримаються у дуплах дерев (влітку) та печерах або щілинах скель (в основному у зимовий період). Згодом основними для *Eptesicus serotinus* стали антропогенно змінені території, на яких він на даний момент є одним з домінуючих видів рукокрилих [5].

Утримування кажана пізнього проводилося на базі Київського центру реабілітації рукокрилих, що функціонує з 1998 року на території Київського зоопарку [2]. У зв'язку з тим, що досвід утримування кажанів значно обмежений, ми користувалися оригінальною методикою. Умови утримування *E. serotinus* значною мірою продиктовані досить низькою спеціалізацією виду відносно місць зимівлі та способу живлення. Протягом літнього періоду тварин утримують в тераріумах (120х50х70 см) з вентиляційними щілинами, сховищами (дуплянками та спорудами з пінопласту або картону), годівницями та напувалками. Такий об'єм тераріумів дозволяє особинам даного виду перелітати з місця на місце, але це переміщення не є типовим. У деяких випадках використовують тераріуми меншого розміру (наприклад, 40х40х45 см), але обов'язковою вимогою до них є забезпечення гарною вентиляцією. Найчастіше кажани перепозують від сховищ до годівниць, намагаючись триматися на вертикальних поверхнях, проте у випадку необхідності спускаються на дно тераріума, вкрите шаром тирси товщиною 0,5–1,5 см. Спеціальне зволоження субстрату не проводять, що пояснюється природною схильністю виду до помешкань з відносно сухим повітрям. Вологість зазвичай тримається на рівні 50–70 %.

Підсумування даних про живлення тварин, отриманих у попередні роки, створило базу для розробки узагальненої системи підгодовлі, яка на нашу думку є оптимальною для поєднання реабілітації травмованих тварин, довготривалого утримування кажанів різних видів та проведення наукових досліджень. Основу раціону складають личинки великого борошняного хрущака (*Tenebrio molitor*). Іноді надаються лялечки цього ж виду комах, личинки *Zophobas morio*, а також личинки різного віку та імаго тарганів родів *Periplaneta*, *Namphaeta* та *Blatella*. Як добавку до раціону використовують личинок та імаго цвіркуна хатнього (*Acheta domesticus*) чи двоплямистого (*Gryllus bimaculatus*). Останнім часом ми годували кажана пізнього переважно личинками *Z. morio* та епізодично – комахами інших видів. У тераріумах постійно знаходиться ємність з водою, що зазвичай розміщується зручно для підходу тварин, найчастіше – біля схованки.

Якщо тварина наприкінці літа – на початку осені не готова до проходження гібернації в близьких до природних умовах, її підгодовлю продовжують до настання морозів. Особин, що набули достатньої для вдалої зимівлі маси тіла (традиційно для пізнього кажана – 24 г і більше), вміщують у спеціальний зимувальний ящик-контейнер зі сховищами та постійним доступом до води. Він знаходиться у окремому темному і прохолодно-

му приміщенні з переважанням температур 6–15°C та відносною вологістю повітря 52–65%. Сплячка триває 1–3 місяці. У цей період проводять ретельний контроль температури повітря та маси тіла зимуючих особин. Зниження температури нижче 3 °C намагаються уникати. При досягненні кажанами критично низької маси або при встановленні занадто високої для продовження гібернації температури особин виводять зі сплячки, після чого проводять їх інтенсивну підгодовлю.

Протягом проведення досліджень, результати яких були покладені в основу даної роботи, ми дотримувалися усіх зазначених вище правил утримування кажана пізнього у лабораторних умовах. Єдиним виключенням була зміна уявлень про мінімальну припустиму масу тіла. Кількість корму, що згодовувався, та зміни маси тіла особин фіксували за допомогою електронних вагів з точністю до 0,1 г, для визначення енергетичної цінності спожитих кормів використовували відповідні літературні відомості [3], рухову активність реєстрували за рахунок рівномірного розміщення на дні тераріумів прямокутних паперових міток. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою пакету програм PAST (Paleontological Statistics; O. Hammer, D.A.T. Harper, P.D. Ryan, ver. 1.42, April 4, 2006). Турбування тварин мінімізували, а зважування проводили періодично та уникаючи тривалого перебування особин у руках дослідників. Враховуючи, що періодичні пробудження від сплячки є характерними для виду у природних умовах, періодичне турбування кажанів у лабораторії можна вважати природним.

Результати та їх обговорення. В результаті обробки отриманих даних про динаміку споживання кормів було виявлено, що зміни інтенсивності живлення різних особин та груп тварин у різні роки суттєво варіюють. Показовими є спостереження за дорослою самкою у 2000 році та дорослим самцем кажана пізнього у 2004 р. У першому випадку наявною була відповідність коливань періодам року: чітко виражені піки живлення співпали з весняною та осінньою гіперфагією (у березні та вересні), а у періоди народження дитинчат та линяння особина виявила підвищене на тривалий час споживання корму. В усіх випадках різкому зниженню споживання передувало його поступове зростання, проте весняний та осінній піки були стрибкоподібними (від 2,5–4 ккал на добу до і після стрімкого зростання інтенсивності живлення до 8 ккал/добу протягом близько двох тижнів), а під час обох літніх підвищень стрімкому зниженню споживання передувало його поступове підвищення (близько 5-ти тижнів тривало зростання на 4–4,5 ккал/добу та до 3-х тижнів – зниження на 4–4,5 ккал/добу). Мінімумом (до 1,2 ккал/добу) була інтенсивність живлення у кінці року, коли у природних умовах тварини вже не мають можливості полювати. Протягом всього літнього періоду максимальна інтенсивність споживання корму була відмічена наприкінці травня (8 ккал/добу). Середнє значення енергетичної цінності спожитих за добу кормів становило 4,7 ккал. Слід зазначити, що перший та останній піки живлення є нетиповими для природних умов, що пояснюється недостатньою кількістю об'єктів полювання, та стали наслідком відсутності обмеження підгодовлі кажанів у лабораторії. У другому випадку (живлення самця) спостерігали цілком відмінну динаміку. Так, наявними були два піки інтенсивності живлення, які досягали відповідно близько 9 ккал/добу (у травні) та до 17 ккал/добу (у липні); між зазначеними піками кількість спожитих за добу кормів сягнула найнижчого за весь літній період значення (2 ккал/добу). Два підвищення співпадають з такими у самиці, але осіння гіперфагія є більш вираже-

ною. Відсутність двох додаткових піків живлення, визначених нами як нетипові, доцільно пов'язувати з нормальною масою тіла тварини та відсутністю витрат енергії на піклування про нащадків. Висока середня інтенсивність живлення самця (5,97 ккал/добу) пояснюється особливостями підгодівлі та особини.

Отже, порівняння даних щодо живлення двох вказаних вище особин відповідає отриманим за допомогою ультразвукового детектора відомостям про піки активності тварин [8], які зумовлені фазами річного циклу життєдіяльності, проте виявляється доцільним виділення лише двох періодів інтенсивного живлення (весняного і осіннього, без виділення літнього). Зауважимо, що піддослідна самиця не вигодовувала дитинча, що, вірогідно, і пояснює вказані розбіжності.

При розгляді динаміки інтенсивності живлення групи з 10-ти особин (5 самок та 5 самців, яких утримували у Центрі протягом 2000–2006 рр.) підтверджується наявність двох зазначених піків живлення у травні та серпні, але додатково з'являється стрімке зростання і відповідне спадання інтенсивності споживання кормів у липні (яке, вірогідно, є виявом ранньої осінньої гіперфагії деяких особин). Як і при аналізі живлення самиці, під час розгляду поїдання кормів групою тварин ми спостерігали два малоімовірних у природних умовах піки інтенсивності живлення (у березні та у листопаді), які пояснюються споживанням кожанами кормів, що за різних обставин надавалися після початку та до закінчення природної гібернації. За весь період літньої активності найменшу кількість кормів тварини споживали всередині березня (близько 1 ккал/добу), найінтенсивніше живлення зафіксоване на початку квітня (до 34 ккал/добу); середній показник становив 12,09 ккал/добу.

Таким чином, завдяки спостереженням за живленням особин *E. serotinus* різної статі у лабораторних умовах було встановлено, що динаміка інтенсивності споживання кормів протягом літнього періоду та середнє значення енергетичної цінності спожитих кормів істотно варіюють у різних особин, але обов'язковою є весняна гіперфагія та, у різній мірі, підвищення інтенсивності живлення восени. Кількість корму, що споживається, залежить від індивідуальних особливостей особини (статі, нажирування тощо). При наявності достатньої кількості доступних кормів період літньої активності розпочинається раніше (на початку березня) та триває довше (до грудня або безперервно), що супроводжується появою двох нетипових піків живлення без остаточного нівелювання вихідних піків.

Іншим напрямком досліджень був аналіз змін маси тіла особин *E. serotinus* під час гібернації. У 2006 році змівля тварин проходила у чотирьох приміщеннях; у трьох контейнерах утримувалися групи з двох особин, у одному – з чотирьох самців. Значення температури та міри рухової активності кожаних фіксувалися окремо. Результати аналізу свідчили про відповідність штучно створених умов зимівлі нормальним, тобто природним; втрата енергії відбувалася в основному залежно від особливостей фізіологічного стану організму особин.

Кожани, що на початку гібернації мали надмірну масу тіла (34–46,2 г), втратили до 23,7 %. Всі ці особини утримувалися у Центрі реабілітації протягом декількох років та до літа 2005-го року не мали можливості літати. Спроби влаштування примусових польотів у липні 2005 р. показали, що локомоція даних особин значно ускладнена надмірним нажируванням. Натомість тварини, що потрапили до лабораторії минулого року і мали нормальну (21,3–25,5 г) чи низьку (19–19,4 г) масу тіла втратили відповідно від 5,8 % до 1,05 % маси. Аналіз зміни маси тіла протягом зимового періоду дозволяє

стверджувати, що нормальною у природних умовах є втрата особинами кожана пізнього 1-5 % від вихідної маси тіла, тоді як прискорене схуднення чотирьох тварин є механізмом повернення до нормального нажирування, що досягається у тому числі за рахунок підвищеної зимової активності та легкого припинення гібернації після найменшого турбування. Кожани з нормальною та низькою масою тіла виявили здатність підвищувати таку протягом зимівлі, набираючи у проміжках між деякими зважуваннями до 0,3 г; причини та фізіологічні механізми таких змін залишаються невідомими, але вони безперечно відіграють важливу роль для переживання тваринами зимового періоду.

Слід звернути увагу на зимівлю дорослого самця кожана, який на початку гібернації випадково опинився поза контейнером і був відловлений тільки навесні (23.02.2006). Ця особина не мала доступу до напувалки та знаходилася у щілині стіни будівлі, де температура протягом 7–10 днів була від'ємною, досягаючи -3 С. Згаданий кожан втратив 9,1 г, що складає 35,69 % від початкової маси тіла, але вижив і самостійно залишив схованку під час чергового підвищення температури повітря.

Загалом тварини, серед яких у даному експерименті переважали самці, за період гібернації втратили від 9,6 г до 0,2 г маси тіла, що становило відповідно від 23,70 % до 1,05 % від вихідного показника. Вияви рухової активності під час зимівлі залежали від нажирування особин та спричинялися турбуванням кожаних або коливаннями тиску повітря, але практично не були пов'язані з температурою навколишнього середовища. Припущення про пряму залежність активності тварин від коливань температури у приміщеннях статистично не підтвердилося. Можна було спостерігати спонтанні прояви активності у моменти стрімкого підвищення або зниження температури, але порівняння даних про активність з температурою у приміщеннях та на вулиці дало підстави вважати, що кожани реагують в основному на зміни тиску повітря, пов'язані з метеорологічними явищами.

Характер пересувань свідчить про відсутність потреби доступу до води у даного виду. Отже, фактор турбування, що веде до тимчасового пробудження від сплячки та прискореної втрати запасів енергії, слід виділити як основний зовнішній чинник, що загрожує вдалому проходженню гібернації у *E. serotinus*.

Аналіз записів Центру реабілітації показав, що у більшості випадків до рук людей потрапляли самці. Їх знаходили на вулицях міста переважно на початку та наприкінці гібернації, після стрімких змін температури повітря. Особини були знесиленими та виснаженими, але не травмованими. Результати нашого експерименту дозволяють стверджувати, що причиною порушення гібернації не була недостатня маса тіла, а втрата енергії та маси являла собою наслідок невдалого пошуку нової зимової схованки після невчасного пробудження. У свою чергу, підвищена рухова активність протягом зимівлі характерна саме для кожаних з нормальним та надмірним нажируванням. На відміну від самців, самки часто потрапляли до Центру з травмами крил. Невелика кількість самиць серед особин, що передчасно припинили гібернацію, може бути наслідком їх виснаження за рахунок вигодовування дитинчат (що призводить до нижчої маси тіла вже на початку зимівлі), свідчити про кочівлю особин на зимовий період або про розміщення самок у окремих схованках з оптимальними умовами. На даний момент пояснення такого співвідношення статей серед особин, що невчасно перервали гібернацію, відсутнє.

Висновки. Динаміка інтенсивності живлення кожана залежить від статі особини та її нажирування, а також варіює згідно з можливістю та складністю доступу тварин до кормів. В цілому, наявними у більшості випадків є весняне та осіннє підвищення, але самці можуть ви-

являти лише один пік живлення, а самки у випадку легкого доступу до кормів навесні та восени демонструють два нетипові додаткові піки. Загалом кількість корму, що його споживає окрема особина, варіює у широких межах залежно від зовнішніх та внутрішніх факторів.

Визначальним фактором для динаміки маси тіла особини та міри проявів рухової активності є початкова маса тіла. Особини з надмірним нажируванням виявляють здатність реагувати підвищенням активності на мінімальне турбування протягом зимівлі та втрачають до 23,7 % від початкової маси тіла. Тварини з мінімальною масою у відповідь на турбування не пробуджуються, а за зимовий період втрачають близько 1 % маси. На швидкість втрати маси тіла протягом зимівлі *E. serotinus* впливають вихідна маса тіла особини та фактор турбування. Зміни температури повітря у приміщенні, якщо вони не є стрімкими та відбуваються у межах 2–14°C, не здійснюють істотного впливу на проходження гібернації. Можливим є переживання температури до -3°C при відсутності доступу до води, але такі умови ведуть до надмірної втрати енергії. Передчасне припинення сплячки у природних умовах властиве переважно самцям кожана, які залишають схованки у періоди різкого коливання температури повітря. Вірогідно, така поведінка пов'язана з невдалим вибором схованки і не свідчить про недостатнє початкове нажирування.

УДК 578.81

Загалом методика утримування тварин у Центрі реабілітації є вдалою. Варто додати, що для *E. serotinus* є природним споживання жорстких кормів, що стало приводом для поступового переведення особин на живлення личинками *Z. morion*. Бажаним є влаштування примусових польотів з метою підтримання нормальної маси тіла. Під час зимівлі особин групами доцільно надавати тваринам декілька схованок, так як аспекти соціальної поведінки досі не є вивченими в повній мірі. Для успішного проходження гібернації кожанами з критично низькою масою тіла необхідно мінімізувати фактор турбування та максимально стабілізувати температуру оточуючого середовища.

1. Абеленцев В.И., Підоплічко І.Г., Попов Б.М. Фауна України: в 4-х т. Т. 1: Ссавці. Вип. 1. Загальна характеристика ссавців. Комахоїдні, кажани. – К.: Вид. АН УРСР, 1956. – 445 с. 2. Актуальні питання вивчення та збереження біологічного різноманіття: Матер. студ. наук. конф. – К., 2001. 3. Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков: Матер. 1-го Международ. Сем., М., Московский зоопарк, 2002 г. – М., 2002. 4. Власов А.А. // Вестник зоологии. – 1995. – № 1. – С. 84-85. 5. Загороднюк І.В. // Вестник зоологии. – 2003. – № 6. – С. 29-38. 6. Рукокрылые (морфология, экология, экокация, паразиты, охрана): Сб. науч. Тр. – К.: Наукова думка, 1988. – 196 с. 7. Тищенко В.М. Лилик пізній – *Eptesicus serotinus* // Праці Теріологічної школи "Ссавці України під охороною Бернської конвенції". – 1999. – Вип. 2. – С. 81-92. 8. Bartonicka T., Zukar J. // Folia Zool. – 2003. – Vol. 52, №2. – P. 155-156.

Надійшла до редколегії 25.10.06

Л. Семчук, канд. біол. наук, С. Ромашев, пров. інж.,
О. Андрійчук, канд. біол. наук, Т. Ігнатенко, пров. інж.

ВИВЧЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ РОЛІ ПРИРОДНИХ ІЗОЛЯТІВ ФАГІВ ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ В АГРОЦЕНОЗАХ

Запропонована робота є узагальненням авторських досліджень властивостей фагів, виділених безпосередньо з природи, як компонентів екосистеми.

The suggested work is generalization of author's researches of properties of phages isolated directly from the nature, as ecosystem's components.

Дослідження циркуляції фагів у природних системах є важливим науковим завданням у зв'язку з тим, що вони приймають активну роль у регуляції чисельності бактерій [14], в тому числі і патогенних. Однак, незважаючи на велику кількість робіт, присвячених виділенню й дослідженню фагів, процеси, пов'язані з їх екологією та еволюцією в природі, вивчені недостатньо [18-20]. Запропонована робота є узагальненням власних даних авторів статті, присвячених встановленню властивостей природних ізолятів фагів фітопатогенних бактерій, як необхідного етапу досліджень для висвітлення їх екологічної ролі в агроценозах. Як відомо, згідно сучасних оцінок, вони становлять найбільшу за чисельністю групу біологічних об'єктів, що існують у природі.

Автори при проведенні досліджень вважали для себе основним завданням вивчення не окремих фагів, а аналіз сукупності ізолятів, виділених із природи та активних до бактеріальних патогенів різних таксономічних груп. Це дозволяло враховувати їх специфічність. У цьому випадку, така характеристика заміняла загальноприйнятні у вірусології поняття "штами вірусів", що для фагів не застосовуються. Для отриманих фагів вивчали властивості, які забезпечували їх виживання й поширення в природі.

Необхідним етапом вивчення екології фагів є встановлення шляхів поширення фагів в природі. Зокрема, аналізували наявність фагів та чисельність популяцій, активних до штамів *Xanthomonas axonopodis* pv. *beticola*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, виділених у трьох гео-

графічних точках України [9]. Було встановлено, що регулярно, у відібраних пробах основну питому вагу становили фаги, активні до штаму *X. axonopodis* pv. *beticola* 7325 (IMV). Зазначений збудник викликає туберкульоз цукрового буряку [4]. Відповідно до його характеристики, [4] штам був виділений у США, область його поширення Північна Америка і, при цьому, не включає Європу. На думку авторів, одним із пояснень частого виявлення фагів *X. axonopodis* pv. *beticola*, може бути завезення та значне поширення штамів цих бактерій, як при експорті готової продукції (корінь цукрового буряку), так і посівного матеріалу [8]. Іншим можливим поясненням є широкий спектр літичної активності виявлених фагів. Однак, проведені дослідження для шістнадцяти штамів фітопатогенних бактерій *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*, не виявили лізису на жодній випробуваній культурі. Отримані дані дозволяють припустити, що фаги фітопатогенних бактерій можуть виступати як індикатори бактеріального забруднення сільськогосподарської продукції при її імпорті.

Дослідження, що включають аналіз чисельності популяцій в біоценозах потребували не одиничного акту виділення фагів, а виявлення флуктуацій їх чисельності у динаміці. Зокрема, проведено такий безперервний цикл спостережень, протягом 14 місяців Семчук [13]. Дослідження проводили на посівах рослин цукрового буряку (у теплий період року) та на їх коренеплодах (восени, узимку, навесні). При цьому виявляли як "вільні фаги" (не завжди однозначно вірулентні), безпосередньо виділенні з біоценозу так і помірні. Останні були

отримані шляхом УФ – індукції лізогенної мікрофлори. У роботі використовували 14 штамів фітопатогенних бактерій *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*. Графічно, динаміка виявлених титрів вільних та помірних фагів, мала вигляд ламаної лінії, з певними максимумами титрів фагів активних для кожного штаму. Максимальні значення титрів фагів, що виявляли у пробах становили 10^7 БУО/мл. Такі тири були характерні тільки для окремих фагів. При цьому, високі значення зберігалися не довго і уже в наступній пробі вони падали до мінімальних. Після чого, виростали титри інших фагів. Можливо, така картина залежить від наявності в агроценозах достатнього числа чутливих бактерій, здатних підтримувати їх репродукцію. Наряду з цим, для деяких фагів було характерно регулярне виділення. Зокрема, для фагів *P. syringae* pv. *aptata* (плямистість листя цукрового буряку). Найбільш імовірним поясненням, на наш погляд, може бути припущення, що на досліджуваних рослинах цукрового буряку активно розмножується цей бактеріальний збудник. З іншого боку, фаги бактерій, які могли бути випадково занесені в агроценоз і не є характерними для певної сільськогосподарської культури, виявляли рідко, або одноразово. Так, фаги до *P. syringae* pv. *atrofaciens* (бактеріоз пшениці) і *P. viridiflava* (ураження квасолі) виявляли тільки у вузький період часу. Ефективність виділення залежала від пори року, найбільший спектр фагів виділяли влітку.

Для вказаних об'єктів, наряду із природними процесами, в біоценозі можливий антропогенний вплив. Дослідження показали, що фаги зберігають 90% біологічної активності в діапазоні рН 5-11. За межами якого, вони інактивуються. Не виключено, що в природі "кислотні дощі" можуть істотно впливати на чисельність популяцій фагів і приводити до інтенсивного розвитку бактеріозів [7].

Проведення кількісних оцінок помірних фагів, при виділенні із природи, становлять значні труднощі. Зокрема, вони пов'язані із необхідністю індукції їх із лізогенних бактерій. У наших роботах помірні фаги, отримували після висіву проб мікрофлори, без виділення в чисту культуру, на поживний бульйон та їх подальшої УФ- індукції. При цьому, в бульйоні виявляли помірні фаги в низьких титрах. Невисокі значення титрів компенсувались широким спектром фагів, що були індуковані. Зокрема, протягом часу спостереження, виявлена літична активність фагів, стосовно всіх випробуваних штамів бактерій. У випадку використання більшого числа штамів індикаторних бактерій, досить ймовірно, що й число виявлених фагів було б також значно вище. Очевидно, у природі відбувається спонтанна продукція фагів та їх регулярне, або безперервне надходження в біоценози. Такі припущення ще раз вказують як на регулюючу роль фагів в природних осередках, так і існування механізмів, що забезпечують їх циркуляцію.

Забезпечення поширення та збереження фагів у природі залежить не тільки від їх чисельності, але й від стабільності віріонів у навколишньому середовищі. Згідно літературним даним, тривалість збереження біологічної активності фагів є індивідуальною характеристикою. Таке твердження було вказане ще в 30-і роки Бельтюковою [5]. Автор встановила, що строки збереження літичної активності, серед фагів значно відрізняються. Однак, часто строк збереження біологічної активності фагів у біоценозах не завжди тривалий. Це було показано в роботі Андрійчук і співавторами [2] для фагів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*. У зв'язку з цим, можна припустити, що певні обмеження строків збереження інфекційності є досить характерними для фагів фітопатогенних бактерій. У зв'язку з цим, для їх популя-

цій важливою є можливість відтворення чисельності популяції, яка залежить від наявності в біоценозі чутливих клітин. Як відомо, фітопатогенні бактерії швидко інактивуються протягом декількох днів на ґрунті [4], однак можуть довго зберігатися на рослинних залишках. У зв'язку з чим культура ведення сільськогосподарського виробництва може суттєво впливати на санітарний стан агроценозів.

В біоценозах між фагами та бактеріями відбуваються певні процеси взаємодії. Так, репродукція вірулентних фагів у клітинах приводить до лізису бактерій. Інтеграція помірних фагів у геноми клітин змінює їх властивості та зумовлює імунітет від зараження близькоспорідненими фагами. Після фагової інфекції, нелізогенні клітини, що вижили, утворюють популяції резистентних до фагу мутантів бактерій. Очевидно, в природі існують механізми адаптації фагів до нового хазяїна. Одним з таких процесів може бути процес рекомбінації фагів. Зокрема, Андрійчук і співавтори аналізували ефективність рекомбінації фагів виділених із біоценозів [1]. В указаних дослідженнях використовували чотири штам *Pseudomonas*: *P. syringae* pv. *tabaci* 8646 (IMW), *P. syringae* pv. *aptata* 8545 (IMW), *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* 4013 (IMW), *P. alliicola* 8494 (IMW). Для рекомбінації використовували фаги, що не виявляли літичної активності до вказаних штамів. Проводили змішане зараження бактерій парами неінфекційних, до даних штамів, фагів. У роботі аналізували біля у ста варіантів рекомбінантів. Серед них було виявлено лізис штамів бактерій більш ніж в 50% випадках. Основна частина отриманих рекомбінантів була стабільна і зберігала активність після пасажів. Очевидно, така "пластичність" являє собою ефективне еволюційне пристосування, що дозволяє фагам успішно "міняти" хазяїна. Висока частота утворення нових рекомбінантів дозволяє припустити легкість таких подій в природі. Такі події відбуваються в певній мірі випадково. Схеми еволюційного зв'язку фагових популяцій базуються на дослідженні їх геномів. За модульною теорією еволюції фагів, геноми фагів складаються з окремих блоків або модулів генетичного матеріалу. Вважається, що в природних умовах відбувається постійний обмін такими модулями. Зміни в геномі зумовлюють, відповідно, зміни в білках фагів, що мають антигенні властивості. Непрямим підтвердженням вищевказаних рекомбінаційних процесів є наявність споріднених антигенів у фагів, виділених різних штамів бактерій. При цьому згідно результатам Андрійчук й ін. [3], проводили дослідження серологічної спорідненості шістнадцяти ізолятів фагів *Xanthomonas axonopodis* pv. *beticola*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Було встановлено, що фаги, які мають різну морфологію часток (з коротким хвостовим відростком та довгим, що не скорочується), репродукуються, відповідно, на штамів бактерій родів *Pseudomonas* й *Xanthomonas* мали високу серологічну спорідненість. У той же час, дві групи фагів *Pseudomonas syringae* мали незначну подібність [3]. Звертають на себе увагу і інші процеси, які можна розглядати, як пристосування фагів до виживання. Вони описані дослідниками при вивченні їх поширення в природі. Зокрема, фаги фітопатогенних бактерій виділяли із зябер риб Чорного моря, а також зі зразків моху, отриманих з Української антарктичної експедиції. В обох випадках виділено фаги до штамів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*. Не виключено, що в першому випадку фаги були занесені в море зі зливними водами. У пробах зябер, які є фільтруючим апаратом, можливо, виявлявся сумарний пул фагів, що стікають у море [15]. Складніше пояснити високі конче-

нтрації фагів у пробах з Аргентинських островів [8]. При цьому, в обох випадках, понад 90% отриманих ізолятів фагів при подальших пасажах втрачали літичну активність. Аналогічні спостереження були описані іншими авторами. Зокрема, для *Erwinia carotovora* Товкачем [17]. Також, Мкртумян та ін. [11] показали можливість для деяких вірусів актиноміцетів проходження тільки одного циклу репродукції фагів. Після чого наступало "згасання" їх біологічної активності. Очевидно, у цих випадках адсорбуючись на клітинах, фаг проходив цикл репродукції. Однак геноми фагів піддавалися процесам рестрикції – модифікації, що приводило до повної або часткової втрати їх інфекційності. Не виключено, що це була "остання спроба" порятунку популяції фагів, що залежить від чисельності. Для репродуктивного циклу фаги використовували як хазяїна бактерії, які були в зоні досягнення. Очевидно, у таких фагів є невеликий "вибір" – інактивація в навколишньому середовищі або спроба "підібрати" собі хазяїна. Іншим можливим поясненням є дані, які не опубліковані авторами, що після такої репродукції утворені фаги приймають активну участь у рекомбінації фагів. Такі рекомбінанти, як указувалося вище, часто ефективно змінювали хазяїв.

Співіснування в природі бактерій та їх фагів підтримується за рахунок тонкої мутаційної рівноваги, яка зберігає обох антагоністів від повного знищення.

Вивчення екології фагів включає врахування антагоністичних відносин з бактеріями та їх властивостей, що дозволяють їм уникнути лізису. До таких властивостей може бути віднесено утворення резистентних до фагів мутантів бактерій. Після фагової інфекції, нелізогенні клітини, що вижили, утворюють популяції резистентних до фагу мутантів бактерій. Зокрема, у роботах [11] проводився аналіз можливості таких процесів. У дослідженнях резистентні форми фітопатогенних бактерій *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* одержували тільки при високій множинності зараження клітин фагом. Титри фагів становили не нижче 10^9 БУО/мл. Як було указано вище, при їх виділенні із природи, максимальні титри для виявлених фагів становили 10^7 БУО/мл. Виходячи з вищесказаного, можна припустити, що в біоценозах умови, для утворення резистентних мутантів фітопатогенних бактерій, не є оптимальними, а їхня питома вага може бути невисокою. Ці припущення підтверджуються аналізом ефективності утворення фагів зі зміненим спектром літичної активності (так званих h-мутантів) до резистентних бактерій. Добре відомо, що для T-парних фагів h-мутанти можна виявити, при зараженні резистентних штамів з високою множинністю інфекції [16]. В наших дослідженнях, щоб отримати із батьківських ліній фагів їх h-мутанти, автори змушені були звернутися до мутагенів [11].

Дослідження властивостей фагів фітопатогенних бактерій виділених з різних біоценозів дає можливість підійти до питання про їх властивості, що забезпечують їх циркуляцію в природі. У роботі Бойко [10] наведені результати порівняльного вивчення фагів 9В, 123 й 788/8 *Pseudomonas syringae*. Фаги, виділені в різний час, мали значну подібність. Серед них, два отримані шляхом індукції лізогених культур, а один є польовим ізолятом. За особливостями їх поліпептидного, амінокислотного складу, особливостями геномів, порівняння яких проводили мето-

дом рестрикційного аналізу, автори дійшли висновку, що фаги становлять близькоспоріднену групу. Незалежне виділення фагів, наводить авторів на думку, що ареал їх поширення може бути досить широким.

Таким чином, аналіз особливостей фагів виділених безпосередньо із природи дозволяє встановити властивості, важливі для екології фагів, як компонентів екосистеми. Фаги перебувають у самій основі екологічної піраміди, як за впливом на вище організовані організми – бактерії, так і за чисельністю. Адже, як відомо, сучасні вчені оцінюють бактеріофаги, як найбільш численну групу біологічних об'єктів, що існують у природі. У той же час, їх роль в екосистемах висвітлена дуже мало. Частково, очевидно, це пов'язано з методичними труднощами. А у ряді випадків такий стан речей, можливо, можна віднести до природи вірусів, як проміжної форми між живою та неживою природою. У зв'язку з чим, вивчення й висвітлення їх ролі в екосистемах важко переоцінити.

1. Андрійчук О.М., Семчук Л.І., Ромашов С.А. та ін. Аналіз частоти рекомбінацій фагів фітопатогенних бактерій та їх роль в природі // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2006. – С. 54.
2. Андрійчук О.М., Семчук Л.І., Ромашов С.А. та ін. Визначення термінів збереження популяцій фагів фітопатогенних бактерій // Ветеринарна біотехнологія. – № 8 – 2006. – С. 3–8.
3. Андрійчук О.М., Семчук Л.І., Ромашов С.А. та ін. Серологічна спорідненість фагів, виділених із агроценозів України // Ветеринарна біотехнологія. – 2005 – № 7. – С. 3–8.
4. Под ред. В.И. Булай. Микроорганизмы – возбудители болезней растений – К., 1988. – 451 с.
5. Бельтюкова К.Г. Бактериофагия при бактериозах клубней картофеля // Микробиол. Журн. – 1935. – № 2. – С. 71–83.
6. Бойко А.Л., Семчук Л.І., Андрійчук О.М. та ін. Виявлення в агроценозах фагів фітопатогенних бактерій *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* та *Bacillus* // Агрокол. журн. – 2002. – № 3. – С. 24–26.
7. Бойко А.Л., Семчук Л.І. та ін. Вивчення властивостей фагів з метою встановлення впливу екологічних факторів на їх популяції // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 1999. – № 29. – С. 54–57.
8. Бойко А.Л., Семчук Л.І., Войцеський В.М. та ін. Виявлення фагів фітопатогенних бактерій в Антарктиді // Агрокол. журн. – 2003. – № 4/ – С. 12–15.
9. Бойко А.Л., Семчук Л.І., Ромашов С.А. та ін. Виявлення природних популяцій фагів фітопатогенних бактерій *Xanthomonas axonopodis* pv. *beticola*, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* в агроценозах України // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2000. – № 31. – С. 61–62.
10. Бойко А.Л., Семчук Л.І., Токарчук Л.В. та ін. Деякі властивості білків і нуклеїнових кислот трьох фагів *Pseudomonas syringae* // Микробиол. журн. – 1997. – № 5. – том 59. – С. 23–33.
11. Мкртумян В.И., Ломовская Н.Д., Славицкая Е.В. Генетические взаимоотношения фагов со штаммами актиномицетов. – Функционирование генома в онтогенезе – 1985. – С. 155–164.
12. Ромашев С.А., Колонюк І.О., Семчук Л.І. та ін. До питання створення засобів захисту рослин на основі фагів фітопатогенних бактерій // Біоресурси та віруси: Мат. IV Міжнар. конф., Київ., 2004. – С. 18–19.
13. Семчук Л.І., Андрійчук О.М., Ромашов С.А. та ін. Екологічні аспекти циркуляції фагів фітопатогенних бактерій у біоценозах // Антропогенно – змінене середовище України: ризики для здоров'я населення та екологічних систем: Мат. Міжнар. конф. – К., 2003. – С. 28–32.
14. Семчук Л.І., Андрійчук О.М., Ромашев С.А. та ін. Екологічні аспекти циркуляції фагів фітопатогенних бактерій у біоценозах // Екологічний вісник. – спец. вип. – К., 2003. – С. 498–504.
15. Семчук Л.І., Степанова О.А., Бойко А.Л. та ін. Виявлення фагів фітопатогенних бактерій у зябрах риб Чорного моря // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2003. – № 41. – С. 156–158.
16. Стент Г., Келіндор Р. Молекулярна генетика. – М.: Мир, 1981. – 280 с.
17. Товкач Ф.И. Изучение фагоустойчивости *Erwinia carotovora* с помощью умеренного бактериофага ZF-40 // Микробиология. – 2002. – том 71. – № 1. – С. 82–88.
18. Ashelford K.E., Norris S.J., Fry J.C. et al. Seasonal Population Dynamics and Interactions of Competing Bacteriophages and Their Host in the Rhizosphere // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – № 66. P. 4193–4199.
19. Marsh P., Toth M., Meijer E. al. Survival of the temperate actinophage C31 and *Streptomyces lividans* in soil and the effects of competition and selection on lysogens // FEMS Microbiol. Ecol. – 1993. – № 13. – P. 13–22.

Надійшла до редколегії 30.11.06

УДК 615.377.3:371

Г. Потебня, д-р мед. наук, Н. Трохименко, асп.,
В. Позур, д-р біол. наук

СПОСОБИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИПУХЛИННИХ ВАКЦИН

Проаналізовано дані літератури про можливість підсилення ефективності протипухлинних вакцин за рахунок цитокінів та пробіотичних препаратів. З'ясовано механізми їх дії та обґрунтування рекомендацій щодо застосування в клінічній практиці.

The literature data about the ability improvement of cancer autovaccine efficacy by cytokines and probiotics preparations were analysed. It has been elucidated the action and substantiation of recommendations to using in clinical practice.

Останнім часом значно зріс інтерес дослідників до використання специфічної та неспецифічної імунотерапії та імунoproфілактики пухлин. Досягнення молекулярної біології та генної інженерії дали можливість одержувати високоочищені антигени пухлинних клітин у препаративних кількостях, що зумовило новий поштовх у розвитку досліджень протипухлинних вакцин (ПВ). У той же час стало зрозумілим, що наявність пухлиноспецифічних чи пухлиноасоційованих антигенів і ПВ, створених на їх основі, не забезпечують повноцінної імунної відповіді, необхідної для ерадикації пухлинних клітин. Сучасні дані свідчать про те, що в реалізації протипухлинної імунної відповіді бере участь велика кількість допоміжних чинників: костимулюючих молекул, факторів адгезії, цитокінів і т.п. Реалізації протипухлинної відповіді на пухлинний ріст заважають розвиток толерантності або паралічу імунної системи під впливом надлишку пухлинних антигенів, пригнічення продукції деяких компонентів комплексу гістосумісності, зміни спектру цитокінів і т.п. Тому з'ясування цих важливих положень протипухлинного імунітету є важливою умовою розробки нових перспективних підходів до вакцинотерапії раку.

Конструювання ПВ, вивчення механізму їх дії та обґрунтування рекомендацій щодо застосування в клінічній практиці є, безумовно, пріоритетним напрямком сучасної медичної науки і буде сприяти розробці більш ефективних методів лікування онкологічних захворювань людини і створенню принципово нових протипухлинних засобів, які дозволять суттєво подовжити тривалість та якість життя онкологічних хворих.

Сучасний стан специфічної імунотерапії пухлинних захворювань можна визначити як завершення того початкового періоду, коли потрібно було довести можливість її застосування в онкології. На даний час вже показані позитивні результати застосування ПВ щодо пухлин різного гістогенезу. Крім того, цей метод є порівняно безпечним, на відміну від хіміотерапії, застосування якої супроводжується вираженими побічними ефектами. Кількість клінічних випробувань ПВ суттєво зросла за останні роки, і на сьогодні ефективність різного виду вакцин вивчається в десятках широкомасштабних досліджень. На даний час, для деяких ПВ завершується III фаза клінічних випробувань, і вже в недалекому майбутньому активна імунотерапія стане стандартним методом і частиною комплексного лікування онкологічних хворих.

Проте, на жаль, оптимізм імунологів та отримані експериментальні дані багато в чому не підтверджуються реальними клінічними ефектами та не виправдовують затрачених зусиль. Навіть найбільш технологічно складні та економічно затратні ПВ на практиці виявляються малоефективними [8], тому дослідження в сфері конструювання ПВ залишаються актуальними.

Головним завданням при створенні ПВ є підвищення імуногенності антигену, який входить до її складу, чи посилення специфічної імунної відповіді на нього. Подальший прогрес вакцинотерапії пухлинної хвороби, безумовно, буде пов'язаний з розширенням спектру іден-

тифікованих пухлинних антигенів та створенням імуногенних форм, які змогли б подолати імунологічну толерантність організму. Однак, перспективи цього методу особливо залежать від створення нових, більш ефективних ад'ювантів. Тому фундаментальні дослідження, які пов'язані зі з'ясуванням механізмів розвитку протипухлинної імунної відповіді, і нові технологічні прийоми дозволять розробити більш ефективні та універсальні засоби специфічної імунотерапії пухлинної хвороби. Завданням майбутніх досліджень є також розробка систем транспортування лікарських форм, які б забезпечили формування максимального рівня імунної відповіді.

Результати експериментальних та клінічних досліджень ефективності вітчизняної ПВ для профілактики рецидивів та метастазів показали її стимулюючий вплив на активність клітинного і гуморального імунітету [5]. Проте аналіз сучасних даних щодо застосування в онкологічній практиці ПВ свідчить про неможливість досягнення високого ступеня профілактичної і терапевтичної ефективності лікування хворих за допомогою засобів імунотерапії. Практично всі специфічні ПВ діють ефективніше при використанні їх з ад'ювантами різного походження (RANES, DETOX, БЦЖ, цитокіни та ін. імунomodulators).

Було показано, що протипухлинна аутовакцина (ПАВ), створена на основі препарату глікопротеїдної природи, який виділений з фільтрату культуральної рідини *B.subtilis* B-7025 і проявляє цитотоксичну дію щодо пухлинних клітин, має ряд переваг перед вакциною, виготовленою традиційним шляхом, оскільки позбавлена баластних речовин, які викликають побічні ефекти, і дозволяє стандартизувати процес виготовлення вакцини. Оскільки виділений глікопротеїд проявляє імуноад'ювантні властивості (підвищує імунну відповідь на такі онкофетальні антигени, як раково-ембріональний антиген та α -фетопротейн), то доцільним було дослідити його модифікуючі властивості щодо ембріональних антигенів, які можуть експресуватися в пухлинах різного гістогенезу і здатні істотно впливати на хід пухлинного процесу. Це відкриває перспективи використання їх як універсальних специфічних імуногенів, які при застосуванні з відповідними ад'ювантами можуть стати основою для створення алогенної або ксеногенної протипухлинної вакцини [6].

Для удосконалення технології біотерапії пухлинної хвороби особливо важливим є розуміння функцій та механізмів дії цитокінів, які сприяють залученню імункомпетентних клітин до необхідних імунних реакцій, та посилюють здатність Т-лімфоцитів елімінувати злоякісні клітини. Тому біологічні модифікатори імунної відповіді (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-12, ІНФ, ГМ-КСФ та ін.) часто використовуються в технологіях створення вакцин.

В найпростішому варіанті, такі цитокіни вводяться разом з антигеном та стимулюють локальну імунну відповідь на нього [9]. Проте, суттєві відмінності у фармакокінетиці цих компонентів і, передусім, короткий період напівжиття цитокінів стають на перешкоді одержання

адекватного ефекту від застосування такої комбінації. Тому гени, що експресують цитокини вводять до складу ДНК-вакцин; в цьому випадку відбувається експресія вибраного імуностимулюючого білка, інколи одночасно з пухлинним антигеном [10]. Зокрема, інтратуморальне введення плазмиди, яка кодує ІЛ-2, ІЛ-12 чи ІНФ, викликає довготривале локальне зростання концентрації цих білків в пухлинній тканині. Це викликає стимуляцію специфічної протипухлинної відповіді і дозволяє уникнути токсичних проявів, які виникають при системному введенні таких препаратів [11].

Комбінація пухлино-асоційованих антигенів, представлених у формі живих, але опромінених у летальних дозах, пухлинних клітин, за наявності високих локальних концентрацій цитокинів, які продукуються цими ж клітинами, може суттєво підвищити імунну відповідь та викликати індукцію цитолітичних Т-лімфоцитів передусім в місці ін'єкції вакцини, та, в подальшому, в пухлинній тканині, за рахунок міграції туди цих клітин [12, 13]. Проте, крім технологічної складності, пов'язаної з одержанням матеріалу від кожного хворого, виведення клітинної лінії, процедури трансфекції, селекції трансфєкованих клітин, що потребує складного обладнання та допоміжних технологій, існують також труднощі, пов'язані із стандартизацією одержаного клітинного матеріалу та тривалістю процедури.

Дещо спрощує процедуру використання алогенних трансфєкованих клітинних ліній, які можуть вводити хворому окремо, чи в комбінації з аутологічними пухлинними клітинами, або їх лізатом. Оскільки, як уже згадувалось раніше, існує проблема відповідності антигенного профілю вакцини та пухлинних клітин хворого, додавання пухлинного матеріалу хворого суттєво впливає цей недолік.

В цьому випадку алогенні стабільно-трансфєковані клітини фактично виконують роль лікарської форми, яка тривало і стабільно підвищує локальну концентрацію цитокинів і, відповідно, стимулює імунну відповідь на нього. Рекombінантні вакцини з використанням різноманітних цитокинів проходять клінічні випробування уже декілька років. В них використовують, як правило, алогенні та аутологічні пухлинні клітини чи фібробласти, трансфєковані генами цитокинів.

Підставою для введення до складу вакцин ІЛ-2 є його відомі протипухлинні властивості та здатність при системному введенні впливати на ключові механізми регуляції Т-клітинної імунної відповіді. Застосування алогенних чи аутологічних пухлинних меланомних клітин, трансфєкованих геном ІЛ-2, призводило до зростання кількості специфічних цитолітичних Т-лімфоцитів у деяких хворих, що в окремих випадках супроводжувалось клінічним ефектом [14]. Подібні результати одержані і при трансфекції цим геном аутологічних клітин у хворих з колоректальною та нирковою карциномою. В інших експериментах та клінічних дослідженнях показано, що введення пухлинних клітин, трансфєкованих геном ГМ-КСФ, індукувало потужну специфічну, тривалу протипухлинну відповідь, яка корелювала з позитивним клінічним ефектом при меланомі [15].

Клінічні випробування таких вакцин розпочаті при пухлинах нирки, підшлункової залози, передміхурової залози та ін. Трансфекція клітин карциноми нирки геном ІЛ-4 викликала виражену імунну відповідь на них та супроводжувалась розвитком пухлинно-специфічної імунної відповіді, опосередкованої CD8⁺ Т-клітинами, які були активні також відносно клітин, які не експресували ІЛ-4. Алогенні меланомні клітини, які секретують цей інтерлейкін, також посилюють специфічну Т-клітинну антимеланомну імунну відповідь [16].

Досліджується можливість застосування цього підходу для лікування меланоми з використанням генів ІНФ- α , ІЛ-6 та ІЛ-12.

ІНФ є одним з ключових модуляторів імунної відповіді; він впливає на процеси розпізнавання антигену, диференціювання, залучення, а також на функціональну активність імунокомпетентних клітин. Встановлено, що ІНФ має прямий вплив на ріст і диференціювання пухлини, та є індуктором апоптозу. Найбільший інтерес для вивчення становлять ефекти ІНФ, пов'язані із підвищенням імуногенності пухлини та зміною її чутливості до цитотоксичної та стимулюючої дії Т-лімфоцитів [1].

ІНФ є потужним індуктором експресії генів головного комплексу гістосумісності (і класу I, і класу II). Саме ця властивість, окрім інгібуючого росту та непрямого імуномодулюючого впливу, є однією з причин застосування ІНФ при вакцинації [17]. Преклінічні дослідження на мишах показали, що ІНФ- γ потенціює імунну реакцію при вакцинотерапії меланоми, проте, ефект ІНФ при вакцинації антигенами меланоми в клінічних умовах вивчений недостатньо.

На користь доцільності застосування ІНФ разом із ПВ свідчать факти високої клінічної протипухлинної активності ІНФ при метастатичній меланомі, та зростаюча кількість даних про позитивний вплив цього цитокину на подовження безрецидивного періоду у хворих з високим ризиком після резекції пухлини [18]. Механізми синергічної дії вакцини та ІНФ, ймовірно, будуть відрізнятися залежно від складу вакцини та тих імунних реакцій, які забезпечують ефект імунізації.

В чисельних роботах показано, що найбільшу стабільність протипухлинної дії має ІНФ- α [1, 14]. Результати експериментальних та клінічних досліджень обґрунтовують використання ІНФ- α в якості елемента оптимізації комплексного лікування, спрямованого на зниження метастатичного ризику та підвищення якості життя онкохворих [19, 20].

Роль ІНФ в складі комбінацій з іншими біологічними агентами чи хіміопрепаратами стала предметом інтенсивних досліджень. Особлива увага надається вивченню ефектів, які виявляє ІНФ при застосуванні разом з активною специфічною імунізацією. Введений перорально ІНФ- α має ефективний терапевтичний та імуномодулюючий вплив, завдяки дії на всі ланки імунної відповіді. Проте, для перорального введення цитокину необхідний захист від деградуючого впливу травних секретів [2]. Оригінальним методом доставки ІНФ є використання живого бактеріального вектора – *B. subtilis*. В бактеріальних клітинах клоновано ген ІНФ- α , при цьому рекombінантний штам має здатність продукувати ІНФ при пероральному введенні в організм [3].

Відомо, що рекombінантний ІНФ- α є одним з перших цитокинів, який з успіхом використовується в клінічній практиці при вірусних захворюваннях та імунодефіцитних станах. ІНФ є одним з ключових факторів активації механізмів неспецифічної резистентності. Крім того, дуже важливим моментом є те, що синтез ІНФ здійснюється бактеріями, які вводять перорально в шлунково-кишковий тракт. Такий спосіб введення ІНФ має ряд переваг порівняно з парентеральним надходженням відомих препаратів ІНФ. При цьому знижується імунна відповідь по відношенню до ІНФ, який виробляється бактеріями в кишечнику, збільшується термін його дії, а також не спостерігається побічної дії препарату.

Велику увагу приділяють розробці імуномодуляторів на основі різних штамів мікроорганізмів, які мають протипухлинну активність. Такі препарати використовують в онкології для підвищення ефективності протипухлин-

ної хіміо- та променевої терапії, зниження їх небажаної токсичної дії, або з метою запуску чи активації механізмів, які здатні еліминувати злоскісні клітини з організму чи запобігати їх розвитку.

На основі рекомбінантного штаму сконструйований пробіотичний препарат субалін, який здійснює доставку ІНФ до імунокомпетентних клітин пейєрових бляшок та епітеліальних клітин слизових оболонок. Препарат субалін відносять до пробіотиків нового покоління. Його основою є рекомбінантний штам бактерій *B. subtilis* 2335/105, який містить ген синтезу універсального антивірусного агента α -інтерферону людини. Препарат характеризується високою антагоністичною активністю по відношенню до широкого спектру патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів та вірусів. Проведені всебічні випробування безпечності (включаючи гістологічне вивчення різних органів і тканин) препарату субаліну на лабораторних та сільськогосподарських тваринах довели, що при різних способах введення (в тому числі і парентеральному) в дозах, які значно перевищують рекомендовані до застосування, ні культура, ні препарат не викликають у тварин патологічних змін [7].

Останнім часом прийшли до висновку, що в загальній стратегії ведення онкологічних хворих необхідно застосовувати пробіотики – препарати, створені для нормалізації мікробіоценозів. Пробиотики бактеріальної природи мають безперечну перевагу, їх номенклатура достатньо широка, вони відрізняються один від одного штамми мікроорганізмів, і, відповідно, різним набором біологічних властивостей. Проте, впровадження пробіотиків перебуває на початковому етапі клінічного дослідження.

Термін "пробиотики" використовують для позначення природних ад'ювантів – живих мікроорганізмів, введення яких в організм сприяє підтриманню і відновленню біологічного балансу його нормальної мікрофлори і проявляє на нього позитивний вплив. Пробиотики застосовують для захисту організму від несприятливих екологічних умов, порушень обміну речовин, при гострих та хронічних захворюваннях і дисфункціях шлунково-кишкового тракту. Більшість пробіотиків, що існують сьогодні на фармацевтичному ринку, призначені для лікування і профілактики дизбактеріозів шлунково-кишкового тракту та санації ротової порожнини.

Використання пробіотиків в комплексній системі лікування онкологічних хворих є доцільним не тільки з точки зору нормалізації мікрофлори, а й тому, що в процесі життєдіяльності пробіотики синтезують специфічний комплекс метаболітів, які складають основу сукупного лікувального ефекту. Більшість пробіотиків мають імунокорегуючі властивості, тому в зарубіжній літературі мають назву "імунопробиотики".

Імуномодулятори на основі мікроорганізмів почали використовувати в онкології як для підвищення ефективності протипухлинної хіміо- та променевої терапії, зниження їх небажаної токсичної дії, так і з метою активації специфічних механізмів, які здатні еліминувати

злоскісні клітини з організму чи запобігти їх розвитку [4]. Але механізм дії пробіотиків, а також умови, при яких доцільне їх використання, треба ще ретельно вивчати.

Висновки. Виявлені властивості цитокінів та пробіотичних препаратів а саме – імуномодельюча активність, протипухлинна і антиметастатична дія – дозволяє розглядати перспективним для подальшої оцінки можливості їх застосування в комплексній терапії злоскісних новоутворень, особливо в поєднанні з вакцинотерапією.

1. Воронцова А.Л., Кудрявец Ю.И. Интерферон как важный элемент оптимизации лечения онкологических больных // Онкология 2000; № 1–2. – С. 16–20.
2. Беляевская В.А., Игнатъев Г.Г., Чердынцев Н.В., Литвяков Н.В. Адьювантные свойства рекомбинантного пробиотика субалина, продуцирующего интерферон. Журн. микробиол. 2001. – С. 77–82.
3. Сорокулова И.Ю., Беляевская В.А., Масычева В.И., Ильичев А.А. Рекомбинантные пробиотики: проблемы и перспективы использования для медицины и ветеринарии. Вестн. РАМН. – 1997; С. 46–49.
4. Воробьев А.А., Германович М.П., Петров Л.Н. Предпосылки и перспективы применения пробиотиков в комплексной терапии онкологических больных. Вopr. Онкологи. – 2004; № 3. – 361–365.
5. Потебня Г.П., Смолянка И.И., Лисовенко Г.С. и др. Эффективность иммунотерапии аутовакциной при лечении больных раком легкого. Онкол. – 2000; №2: С. 191–194.
6. Потебня Г.П., Діденко Г.В., Деорщенко О.С., Лисовенко Г.С., Потебня М.Г., Вотякова І.А., Василевська С.В. Протипухлинна активність вакцини, виготовленої на основі ембріональних тканин та бактеріального глюкотеїду. ДАН. – 2006. – № 4. – С. 172–177.
7. Потебня Г.П., Софронова Л.А., Черемшенко Н.Л., Лисовенко Г.С., Сорокулова І.Б., Трохименко Н.В., Танасієнко О.А., Бомбін А.В. Підвищення ефективності протипухлинної аутовакцини рекомбінантним препаратом субаліну. Журн. микробиол. – 2006; № 5: С. 51–58.
8. Yannelli J.R., Wroblewski J.M. On the road to a tumor cell vaccine. – 2004; № 1. – P. 97–113.
9. Slingluff C.L. Jr, Petroni G.R., Yamashchikov G. V. et al. Phase 1 trial of a melanoma vaccine with gp 100 peptide and tetanus helper peptide in adjuvant. // J Clin Oncol. 2004; № 22. – P. 4474–4485.
10. Liu M, Acres B, Bailoul J-M, et al. Gene-based vaccines and immunotherapeutics. PNAS 2004; 101(suppl.2). – P. 567–571.
11. Hoffman D.M., Figlin R.A. Intratumoral interleukin 2 for renal-cell carcinoma by direct gene transfer of a plasmid DNA/DMRIE/DOPE lipid complex // World J Urol. 2000; 18 № 2. – P. 152–156.
12. Soliffer R., Hodi F., Haluska F., et al. Vaccination with irradiated, autologous melanoma cells engineered to secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by adenoviral-mediated gene transfer augments antitumor immunity in patients with metastatic melanoma // J Clin Oncol 2003; № 17. – P. 343–350.
13. Salgia R., Lynch T., Skarin A., et al. Tumor der lunge and des mediastini drucklegung des manuals mit // J Clin Oncol 2003; № 4. – P. 624–30.
14. Palmer K., Moore J., Everard M., et al. Therapy with autologous, IL-2 secreting tumor cells in patients with malignant melanoma // Hum Gene Ther. 1999; № 8. – P. 1261–1268.
15. Weber J., Sondak V., Scotland R., et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor added to a multipptide vaccine for resected stage 2 melanoma // Cancer 2003; № 1. – P. 186–200.
16. Arienti F., Belli F., Napolitano F., et al. Cancer immunol immunother // Hum Gene Ther. 1999; № 18. – P. 2907–2916.
17. Kirkwood J. Cancer immunotherapy: the interferon-alpha experience. Semin Oncol. 2002; № 3, suppl. 7. – P. 18–26.
18. Anton P., Kirchner H., Jonas U., Atzpodien J. Cytokines and tumor vaccination. Cancer Biother Radiopharm. 1996; № 5. – P. 315–318.
19. Kirkwood J.M., Ibrahim J.G., Sosman J.A., et al. High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/QS-21 vaccine in patients with resected stage 2b-3 melanoma: results of intergroup trial E 1694/S9512/c509801 // J Clin Oncol. 2001; № 9. – P. 2370–2380.
20. Kirkwood J., Ibrahim J., Lawson D., et al. High-dose interferon alfa-2b does not diminish antibody response to GM2 vaccination in patients with resected melanoma: results of the multicenter eastern cooperative oncology group phase 2 trial E2696 // J Clin Oncol. 2001; № 5. – P. 430–6.

Надійшла до редколегії 14.11.06

УДК: E591.2+582.21

А. Кривенда, асп.

МОДИФІКОВАНЕ СЕРЕДОВИЩЕ БОЛДА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ДІАТОМЕЙ

Розроблено модифікацію поживного середовища Болда для культивування діатомових водоростей в умовах неспеціалізованих колекцій мікроводоростей. Середовище апробовано на штаммах 7 родів Bacillariophyta, виділених з прісноводних та ґрунтових біотопів.

The modification of Bold Basal Medium for diatoms cultivation in microalgae unspecialized cultures collection was developed. The medium was examined on 7 Bacillariophyta genera strains which were isolated from freshwater and terrestrial habitats.

Вступ. Діатомові водорості широко використовуються в визначенні екологічної якості вод та моніторингу

стану водних екосистем. Зокрема, в країнах ЄС обов'язковим елементом аналізу якості вод є розрахунок так

© Кривенда А., 2007

званих діатомових індексів [4, 6]. Ця методика базується на даних стосовно зустрічання різних видів діатомових водоростей в водах з різними фізико-хімічними параметрами. Такі дані були отримані в результаті досліджень природних угруповань. Для подальшого вдосконалення методики діатомових індексів необхідні дослідження по визначенню норм реакцій індикаторних видів в експериментальних умовах. Передумовою цього є створення колекції культур діатомей. Особливості життєвого циклу та метаболізму діатомових водоростей (а саме, потреба в розчинному кремнеземі для побудови панциру, гетеротрофність багатьох видів за біотином, тіаміном та ціанкобаламіном) створюють методичні проблеми по виділенню та підтриманню культур діатомей в великих неспеціалізованих альгологічних колекціях, таких як SAG, UTEX, CCAP, а також альгологічної колекції Київського національного університету імені Тараса Шевченка (АСКУ) [2, 3, 8]. Зазвичай, для зменшення витрат реактивів та часу в таких колекціях намагаються використовувати обмежену кількість середовищ, віддаючи перевагу середовищу Болда (BBM) [6], або його модифікаціям. Проте для культивування діатомей BBM не придатне, а його модифікації для *Bacillariophyta* відсутні. Метою нашої роботи було розробити просте середовище для культивування діатомей на основі BBM.

Об'єкт та методи дослідження. Пропис середовища був підібраний аналітично, шляхом порівняння даних по біології діатомових водоростей [7], прописів BBM та спеціалізованих середовищ Chu 10, Rodhe VIII, Woods Hole [5, 7] за вмістом мікро та макроелементів та вітамінів. Після аналізу BBM модифікували за складом вітамінів та силікатів.

Успішність культивування діатомових водоростей порівнювалася на наступних модифікаціях поживного середовища: немодифіковане BBM за авторським прописом [1], BBM з додаванням вітамінів та розчину рідкого скла, BBM з додаванням вітамінів, розчину рідкого скла та ґрунтовим екстрактом.

Для приготування поживного середовища BBM, готувалися 6 базових розчинів макроелементів, а саме NaNO_3 – 25 г/л, K_2HPO_4 – 7,5 г/л, $\text{CaCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ – 2,5 г/л, KH_2PO_4 – 17,5 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 7,5 г/л, NaCl – 2,5 г/л. Також готувалися 4 базових розчинів мікроелементів. 1-й розчин: EDTA – 50 г/л та KOH – 31 г/л; 2-й: $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 4,98 г/л (або 1,0 мл H_2SO_4 конц.); 3-й: H_3BO_3 – 11,42 г/л; 4-й: $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 8,82 г/л; MoO_3 – 0,71 г/л; $\text{Co}(\text{NO}_3)_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,49 г/л; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 1,44 г/л; $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 1,57 г/л. Далі 940 мл дистильованої води додавали по 10 мл кожного з 6 базових розчинів макроелементів та по 1 мл кожного з 4 базових розчинів мікроелементів. Для запобігання утворення осаду в поживному середовищі всі розчини змішували в порядку наведеному в прописі. Середовище автоклаувавали за звичайною методикою [5].

Для приготування поживного середовища BBM з додаванням вітамінів та розчину рідкого скла (BBM-D1), базові розчини макро- та мікроелементів готували аналогічно пропису BBM, далі до BBM додавали 10 мл базового розчину рідкого скла – $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$ в концентрації 2,85 г/л, та стерилізували автоклауванням. До охолодженого стерильного середовища додавали розчини вітамінів в наступній концентрації: тіамін (B_1) – 0,1 мг/л; Ціанкобаламін (B_{12}) – 0,5 мкг/л; Біотин (H) – 0,5 мкг/л [7]. Розчини вітамінів стерилізували за допомогою фільтрації крізь міліпорові фільтри з діаметром пор 0,45 мкм.

Для приготування поживного середовища BBM з додаванням вітамінів, розчину рідкого скла та ґрунтового екстракту (BBM-D2), базові розчини макро- та мікро-

елементів, готували за прописом BBM. ґрунтовий екстракт готували за наступним прописом: в співвідношенні 1:1 змішували ґрунт та дистильовану воду, кип'ятили протягом 1 години, залишали на добу, кип'ятили ще протягом однієї години, фільтрували та автоклаувавали за звичайною методикою [5]. ґрунтову витяжку додавали до BBM у співвідношенні 1:3. Далі додавали розчин рідкого скла та вітамінів за прописом BBM-D1.

Апробацію середовища проводили на природному матеріалі з різних типів місцезростань (р. Дніпро, р. Смотрич, ефемерні водойми (Тернопільська обл.), ґрунтові проби з околиць Зміїних островів (Канівський природний заповідник)), використовуючи методики накопичувальних та альгологічно чистих культур [9]. Критерієм придатності середовища була кількість видів-домінантів, яку можна було виділити в культуру та тривалість підтримання культури в життєздатному стані.

Результати та їх обговорення. На не модифікованому BBM активно росли види, що скоріш за все, не потребують додавання вітамінів або інших органічних сполук, а саме *Nitzschia palea* (Kützinger) W. Smith, *Hantzschia amphioxys* (Ehrenberg) Grunow in Cleve et Grunow, та невеличкі навікулоїдні діатомові водорості, що існують в ґрунтах та виступають в якості забруднювачів одновидових культур інших водоростей.

На BBM з вітамінами та кремнеземом розвивалися фітопланктонні (*Stephanodiscus hantzschii* Grunow, *Melosira varians* Agradh), ґрунтові діатомей (*Amphora veneta* Kützinger, *Stauroneis anceps* Ehrenberg) та деякі представники перифітону (*Mayamaea atomus* (Kützinger) Lange-Bertalot, *Mayamaea atomus* (Kützinger) Lange-Bertalot var. *permitis* (Hustedt) Lange-Bertalot, *Nitzschia hungarica* Grunow, *Fragilaria fasciculata* (Agardh) Lange-Bertalot, *Planothidium lanceolatum* (Brébisson in Kützinger) Bukhtiyarova, *Planothidium rostratum* (Østrup) Round et Bukhtiyarova).

На BBM з вітамінами, кремнеземом та ґрунтовим екстрактом розвивалися представники перифітону (особливо епіфітні діатомові водорості) (*Achnanthes hungarica* (Grunow) Grunow in Cleve & Grunow, *Gomphonema augur* Ehrenberg, *Gomphonema acuminatum* Ehrenberg var. *coronata* (Ehrenberg) Rabenhorst, *Fragilaria capucina* Desmazieres var. *capucina*) та бентосу *Surirella minuta* Brébisson in Kützinger, *Pinnularis* sp., *Cymatopleura solea* (Bébisson) W. Smith, *Neidium dubium* (Ehrenberg) Cleve).

У результаті досліджень на модифікованому середовищі нами було введено в АСКУ 12 видів діатомових водоростей (21 штам), що належать до різних систематичних груп, а саме: *Amphora veneta* (ACKU202-03), *Planothidium lanceolatum* (ACKU198-03), *Planothidium rostratum* (ACKU197-03), *Fragilaria fasciculata* (ACKU195-03, ACKU196-03), *Hantzschia amphioxys* (ACKU11-02, ACKU201-03), *Mayamaea atomus* (ACKU12-02, ACKU18-02), *Mayamaea atomus* var. *permitis* (ACKU13-02) *Navicula* sp. (ACKU15-02, ACKU204-03, ACKU 205-03, ACKU 206-03, ACKU 207-03), *Nitzschia hungarica* (ACKU14-02), *Nitzschia palea* (ACKU16-02, ACKU17-02, ACKU199-03) *Nitzschia* sp. (ACKU200-03).

Висновки. Таким чином для неспеціалізованих колекцій можна рекомендувати модифікацію поживного середовища BBM з додаванням вітамінів та розчину рідкого скла. Для культивування діатомей, що відносяться до перифітонних угруповань доцільніше використовувати модифікацію поживного середовища BBM з додаванням вітамінів, розчину рідкого скла та ґрунтового екстракту.

ни (історія та методи дослідження, система, конспект флори). – К., Фітосоціоцентр, 2001. – 300 с. 2. Костіков І.Ю., Новохацька М.А. Колекція культур мікроводоростей (АСКУ) Київського національного університету імені Тараса Шевченка // Вісник Луганського державного педагогічного університету ім. Т. Шевченка. Серія: Біологічні науки. – 2003. – № 66. – С. 46–48. 3. Gärtner G. ASIB – the Culture Collection of Algae at the Botanical Institute of the University at Innsbruck (Austria) Catalogue of Strains // Ber. nat.-med. Verein Innsbruck – 1996. – vol. 83. – P. 45–69. 4. Kelly M.G., Cazaubon A., Coring E., Dell'Uomo A., Ector L. et al. Recommend for routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe // Journal of applied Phycology. – 1998. – vol. 10. – P. 215–224.

5. Nichols H.W. Growth media-freshwater // Handbook of phycological methods culture methods and growth measurements. London: Cambridge University Press. – 1973. – P. 7–25. 6. Prygiel J., Coste M., Bukowska J. Review of the major diatom-based techniques for the quality assessment of rivers – State of the art in Europe // Use algae for monitoring rivers III. – Duai: Agence de l'Eau Artois-Picardie. – 1999. – P. 224–238. 7. Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera. – Cambridge: Cambridge University Press. – 1990. – 747 p. 8. Schlösser U.G. SAG – Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen. Catalogue of Strains // Bot. Acta, 1994. – vol. 107. – P. 113–186.

Надійшла до редколегії 02.11.06

УДК 612.35+591.132.5

П. Цапенко, асп., О. Можеїтова, асп.,
М. Мірошніченко, д-р біол. наук, Т. Лященко, канд. біол. наук

ВПЛИВ РЕЧОВИНИ Р НА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ ГЕПАТОЦИТІВ

Вивчено вплив речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів. Показана відсутність дії речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів.

Influence of substance P on hepatocytes' membrane potential was studied. Absence of effects of substance P on hepatocytes' membrane potential was shown.

Вступ. Як відомо, в живому організмі існує декілька типів регуляторних систем, серед яких одне з провідних місць посідає пептидергічна система регуляції. Основними компонентами цієї системи є низькомолекулярні пептиди, що забезпечують перенесення необхідної інформації, координацію, нормальне функціонування, розвиток і взаємодію клітинних популяцій [1].

Значна кількість регуляторних пептидів бере участь у нейрогуморальній регуляції жовчоутворювальної функції печінки [1]. До них слід віднести і тахікініни – широко поширені в організмі родину регуляторних пептидів, які, в свою чергу, відповідають всім вимогам APUD-концепції для ендокринних клітин. Тахікініни здійснюють швидку регуляцію функцій тканин і органів, у яких вони локалізовані, в тому числі і печінки. Тому, доцільно дослідити вплив цих пептидів на основну функцію печінки – жовчосекреторну. На сьогодні холекінітичні ефекти тахікінінів переконливо доведені [4], а дані літератури щодо впливу тахікінінів на жовчоутворення є протирічними. Одні дослідники вказують на антихолеретичні ефекти цих пептидів [8], тоді як інші показують стимулюючий вплив тахікінінів на транспортні, синтетичні, екскреторні процеси та електричну активність в залозі [2].

Серед багатьох методів вивчення функцій печінки важливе місце посідають електрофізіологічні методи, адже електрична активність біологічних об'єктів залежить від нервової та гуморальної систем та різноманітних фізичних факторів. Багатофакторна залежність електричних параметрів дозволяє досліджувати їх кінетику у відповідь на зміни внутрішнього і зовнішнього середовища організму. Електричні процеси в секреторній клітині відображають анаболічні і катаболічні процеси, процеси секреції та екскреції тощо, тому вивчення електричної активності клітин залози дозволяє дослідити механізми впливу різних факторів як на клітинному рівні організації, так і дослідити міжклітинні взаємодії. Тому дослідження кінетики електричних процесів в основних клітинних елементах печінки – гепатоцитах, є важливим для з'ясування механізмів регуляції функцій цього органу.

Об'єкт і методи досліджень. Досліди проводилися на лабораторних білих щурах масою 200–250 г за умов гострого експерименту. Після наркотизації тварин тіопенталовим наркозом (5 мг/100г маси тіла) проводилася лапаротомія та відмивання печінки від крові розчином Локка для савців зі швидкістю 10 мл/хв. Після перфузії печінки брали ліву чи праву долі органу та відпрепарували сполучнотканинну оболонку. Препарат печінки прикріплювали до експериментальної камери,

дно якої було вкрите силгардом, та перфузувався фізіологічним розчином, що є оптимальним для культивування гепатоцитів [6], такого складу (в мМ/л): 140 NaCl, 4 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 глюкоза, 1 KH₂PO₄, 10 HEPES (pH 7,4, NaOH), що подавався зі швидкістю 2 мл/хв. Розчин оксигенувався.

Вивчення дії досліджуваних речовин на мембранний потенціал гепатоцитів проводили з використанням мікроелектродної техніки. Використовували мікроелектроди з боросилікатного скла зовнішнього діаметру 1,45 мм опором 100–150 МОм, які заповнювали 2,5 М розчином KCl. Потенціал реєстрували диференціальним підсилювачем "AMVCCC" за допомогою комп'ютерної програми "ADCLPT 1.0".

З метою вивчення динаміки мембранного потенціалу гепатоцитів у відповідь на дію класичного нейромедіатора норадреналіну, перфузували препарат розчином норадреналіну у концентрації 1 мкМ/л в матричному розчині. Саме в такій кількості нейромедіатор викликає найбільші зміни в метаболізмі клітин паренхіми печінки, пов'язані з глікогеногенезом [10]. Концентрація ацетилхоліну була 10 мкМ/л, оскільки за даними [3] в такій концентрації він викликає найбільший ефект в пейсмеркерних клітинах синоатріального вузла. Речовину Р застосовували в концентрації 1 мкМ/л, адже в такій концентрації пептид викликає найбільший ефект у внутрішньосерцевих нейронах [9].

Фактичний матеріал оброблено методами варіаційної статистики. Після перевірки на нормальність розподілу за тестом Шапіро-Уїлка нормально розподілені дані обчислювалися за критерієм Стьюдента для залежних виборок з урахуванням тесту Левена. Статистично значущими вважалися відмінності між вихідним рівнем і дослідом при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Нашим завданням було дослідити вплив на мембранний потенціал гепатоцитів основних нейромедіаторів: норадреналіну та ацетилхоліну, які в організмі справляють протилежну дію на основну функцію печінки – жовчосекреторну, та порівняти їх дію з дією речовини Р. Досліди показали, що норадреналін справляє збуджуючий вплив на гепатоцит в цілому, про що свідчить гіперполяризація у відповідь на дію цієї речовини (рис. 1).

Наші дослідження показали, що в стані спокою гепатоцит має мембранний потенціал близько -20 мВ, що узгоджується з даними літератури [7]. У відповідь на дію норадреналіну мембранний потенціал клітини зростає, максимальна його зміна сягала близько -60 мВ та

залишалась на цьому рівні протягом часу перфузії препарату розчином норадреналіну. Отже, в даному випадку спостерігається чітко виражений приклад збуджуючої гіперполяризації, на фоні якої спостерігаються певні коливання потенціалу. Проте, не можна сказати, чи є ці коливання секреторним потенціалом, оскільки вони мають низьку амплітуду та можуть бути пов'язаними з

впливом обладнання. У відповідь на дію іншого класичного медіатора – ацетилхоліну – спостерігається дещо інша реакція (рис. 1). В даному випадку також реєструється збуджуюча гіперполяризація, однак амплітуда коливань клітинного потенціалу гепатоцитів є значно меншою, потенціал сягає -40 мВ, проте реакція розвивається швидше, ніж за дії норадреналіну (рис. 1).

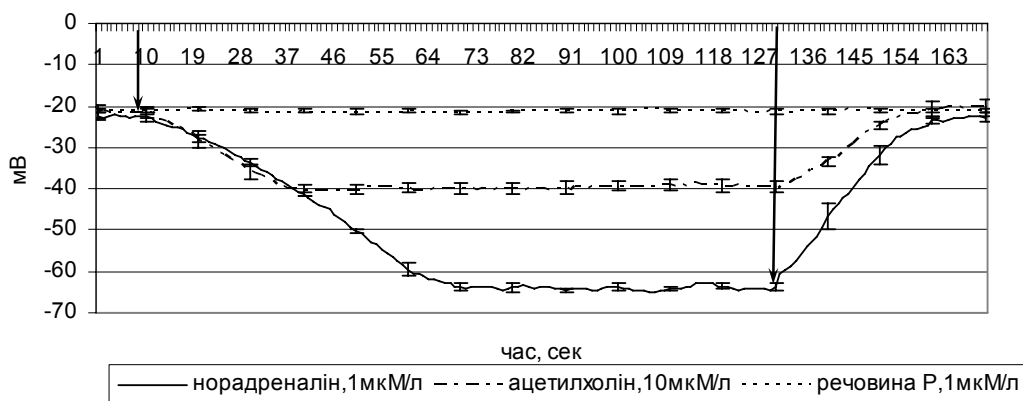


Рис. 1. Вплив норадреналіну ($M \pm m$, $n=4$), ацетилхоліну ($M \pm m$, $n=6$) та речовини Р ($M \pm m$, $n=4$) на мембранний потенціал гепатоцитів.
Умовні позначення: стрілками відмічені початок та кінець перфузії речовини

Отже, гіперполяризація, викликана дією ацетилхоліну є набагато меншою, ніж при дії норадреналіну. Такі відмінності в дії цих речовин можуть бути пов'язані з тим, що у щурів симпатична нервова система відіграє більш значну роль в регуляції функцій печінки, ніж парасимпатична, яка проявляється в більшому тонічному впливі симпатичних нервів в умовах *in vivo*. Отже, гепатоцити інших тварин можуть інакше реагувати на дію норадреналіну та ацетилхоліну. Різниця ж швидкості наростання реакції може бути пов'язана як з механізмами внутрішньоклітинної передачі, так і механізмами міжклітинної передачі. Так, відомо, що існує зональна залежність в експресії рецепторів певних речовин (зокрема, вазопресину) в печінці. В перипортальній зоні концентрація рецепторів більша, ніж у перивенозній. Такий градієнт був знайдений для рецепторів, що пов'язані з системою інозитолтрифосфату та внутрішньоклітинного кальцію. Існує гіпотеза, яка підтверджується експериментальними даними, про те, що клітини з перипортальної зони виділяють інозитолтрифосфат, що зв'язується з відповідними рецепторами клітин перивенозної зони і справляє таку ж дію, як і в клітинах перипортальної зони, цим самим компенсуючи нестачу рецепторів [9]. Логічно припустити, що такий механізм буде дещо уповільнювати відповідь. Норадреналін діє на α_1 -адренорецептори, пов'язані з системою інозитолтрифосфату [10]. В наших експериментальних умовах ми не маємо змоги контролювати, до якої зони належить клітина, від якої ми відводимо потенціал, тому не можна виключати, що певну роль в такій більш повільній відповіді відіграє вищенаведений механізм. Разом з тим, оскільки більшість клітин мала такий характер реакції, більш вірогідно, що норадреналін має більш повільний каскад внутрішньоклітинних реакцій.

Трансдукція сигналу речовини Р, як і норадреналіну, пов'язана з системою інозитолтрифосфату, діацилглицеролу та внутрішньоклітинного кальцію [1]. Отже, логічно було припустити, що її дія буде схожою на дію норадреналіну і ми спостерігатимемо повільну, але знач-

ну гіперполяризацію клітин. Проте, в наших дослідах не спостерігалось ніякого впливу речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів (рис. 1). Це свідчить про відсутність прямого впливу речовини Р на секреторні процеси в гепатоцитах, що може пояснюватися або відсутністю тахікінінових рецепторів на плазматичній мембрані гепатоцитів щурів в нормальних умовах, або тим, що речовина Р регулює інші процеси в гепатоцитах, можливо, лише в патологічних умовах. Отже, знайдені в печінці нервові закінчення, що містять речовину Р, не беруть участі в регуляції секреторних функцій печінки в нормі. Речовина Р, що міститься в цих нейронах не справляє свій вплив навіть опосередковано через інші клітини печінки, зв'язок з якими зберігався в умовах нашого експерименту. Щодо даних літератури про стимулюючий вплив речовини Р на електричні, синтетичні та екскреторні процеси в інтактній залозі, то цей вплив, імовірно, слід віднести на рахунок опосередкованої дії "каскадної" реакції, що пов'язано з системною дією пептиду, який вводився внутрішньочеревно та слугував сигналом для секреції інших гормонів шлунково-кишкового тракту. При цьому, враховуючи схожість системної дії речовини Р та ацетилхоліну, така дія може бути опосередкована парасимпатичними нервами, що містять тахікінінові рецептори, хоча не можна виключати впливу й інших посередників. Таким чином, слід шукати інший холеретичний агент чи агенти, які задіяні в цій реакції. Присутність речовини Р в печінці можна пояснити її участю в регуляції скоротливої активності ГМК жовчовивідних протоків, що в свою чергу пояснює її стимулюючий вплив на екскреторну функцію печінки, та впливом на гемодинаміку в залозі через дію на ендотеліоцити та клітини Іто.

Отже, маємо необхідність пошуку інших регуляторів жовчосекреторної функції печінки та вивчення їх впливу як на гепатоцити в складі печінкової тканини, так і на ізольовані клітини, що дасть змогу досліджувати внутрішньоклітинні механізми дії регуляторів та взаємозв'язки між гепатоцитами, визначаючи, що нового привно-

сильний тканинний рівень організації в регуляцію печінкових функцій.

Висновки. Норадреналін справляє збуджуючий вплив на гепатоцити, що проявляється у збуджуючій гіперполяризації клітин. Ацетилхолін викликає збуджуючу гіперполяризацію гепатоцитів, але його дія є менш вираженою, ніж норадреналіну. Субстанція Р не впливає на мембранний потенціал гепатоцитів, що може свідчити про відсутність тахікінінових рецепторів на їх мембрані в нормі. Стимулюючий вплив субстанції Р на інтактну печінку, ймовірно, пов'язаний з "каскадною" реакцією.

1. Ашмарин И.П. Гипотеза о существовании новой высшей категории в иерархии регуляторных пептидов // Нейрохимия. – 1987. – Т. 6, № 1. – С. 23–28. 2. Лященко Т.П., Чапенко П.К. Влияние стимуляторов та ингибиторов секреции желчи на электрические свойства печени // Вісник Київського національного університету. – 2005. – № 10. – С. 10–11. 3. Aliev R.R., Fedorov V.V., Rozenshtaukh L.V. Study of the effect of acetylcholine on the excitability of true pacemaker cells of rabbit sinus node using computer simulation // Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology. – 2005. –

Vol. 402. – P. 223–225. 4. Carrier N., Connat J.L. Rat common bile duct: structure, pharmacological responsiveness, CGRP innervation, and binding sites // Gen. Comp. Endocrinol. – 1995. – Vol. 100, № 2. – P. 482–490. 5. Dupont G., Tordjmann T., Clair C., Swillens S., Claret M., Combettes L. Mechanism of receptor-oriented intercellular calcium wave propagation in hepatocytes // FASEB J. – 2000. – №14. – P. 279–289. 6. Fitz J.G., Sostman H. Nucleotide receptors activate cation, potassium, and chloride currents in a liver cell line // Am. J. Physiol. – 1994. – 266. – P. G544–G553. 7. Lidofsky S.D., Fitz J.G., Weisiger R.A., Scharschmidt B.F. Hepatic taurocholate uptake is electrogenic and influenced by transmembrane potential difference // Am. J. Physiol. – 1993. – 264. – P. G478–G485. 8. Magnusson L., Thulin L. Effects of substance P on CCK- or VIP-induced cholestasis in anesthetized dogs // Acta. Chir. Scand. – 1979. – Vol. 106, № 3. – P. 293–297. 9. Merriam L.A., Parsons R.L. Activation of phospholipase C is required for substance P induced current generation in guinea pig intracardiac neurones // Journal of Physiology. – 1999. – Vol. 526. – P. 287–298. 10. Sanchez-Gutierrez J.C., Sanchez-Arias J.A., Samper B., Feliu J.E. Modulation of gluconeogenesis by epinephrine in hepatocytes isolated from genetically obese (fa/fa) Zucker rats // Arch. Biochem. Biophys. – 2000. – Vol. 373(1). – P. 249–254.

Надійшла до редколегії 10.12.06

УДК: 577.164.3:612.82:612.014

І. Тубальцева, асп., Є. Тукаленко, наук. співроб.,
М. Макачук, д-р біол. наук, В. Лозова, студент

КВЕРЦЕТИН ПОПЕРЕДЖУЄ ЗМІНИ УМОВНОРЕФЛЕКТОРНОЇ ІНСТРУМЕНТАЛЬНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ У ДОЗІ 2,5 ГР

Вивчено можливість попередження кверцетином негативних наслідків впливу іонізуючого випромінювання на інструментальну діяльність щурів за результатами щотижневого тестування тварин у човниковій та скіннеровській камерах впродовж двох місяців після γ-опромінення (2,5 Гр). Кверцетин, який застосовувався впродовж 14 діб перед опроміненням, ефективно попереджував постпроменеві зміни показників умовнорефлекторної діяльності.

The possibility of the ionizing radiation negative consequences on the rats' instrumental activity quercetine-induced prevention measured by weekly testing in shuttle and Skinner chambers during two months after γ-exposure (2,5 Gy) was examined. Quercetin administrated for 14 days before the exposure, effectively prevented postexposure changes of conditioned activity indices.

Вступ. На теперішній час вважається, що цілий ряд патологічних станів, які спричинені впливом шкідливих чинників різної природи, мають універсальний механізм розвитку – оксидантний стрес, викликаний інтенсифікацією вільнорадикальних процесів [3, 5, 8]. Вплив низькоінтенсивної іонізуючої радіації можна розглядати як неспецифічний чинник, що посилює вільно радикальне окиснення [3]. Суттєва роль оксидантного стресу у розгортанні ефектів дії іонізуючої радіації підтверджена хемілюмінесцентними, біохімічними та фізіологічними методами як у клінічних, так і в експериментальних дослідженнях щодо можливості зменшення радіаційних ефектів за допомогою антиоксидантів [6, 7, 9]. Виходячи з цього, обґрунтовується застосування засобів з антиоксидантними властивостями для попередження чи зменшення порушень, що виникають за умов впливу на організм несприятливих чинників різної природи, в тому числі радіаційного фактору [3, 6, 8, 9]. Проте, широке застосування антиоксидантної терапії виявило, що навіть тоді, коли роль порушень окиснювального гомеостазу у патологічних процесах не викликала сумніву, використання антиоксидантів часто не призводило до очікуваного позитивного ефекту, а іноді викликало навіть негативну реакцію [2]. Визначення ефективності застосування антиоксидантних засобів залишається однією з актуальних та складних проблем, якій присвячено велика кількість сучасних досліджень.

Серед антиоксидантних засобів значна увага приділяється флавонолу кверцетину, біологічна активність якого, як усіх флавонолідів, визначається високою здатністю до окиснення. Кверцетин інгібує пероксидацію,

акцептує гідроксильний радикал та супероксиданіон, знешкоджує пероксильні радикали ROO [1].

Метою роботи було вивчити можливість попередження кверцетином негативних змін інструментальної діяльності щурів після γ-опромінення у дозі 2,5 Гр.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на 41 статевозрілих білих щурах самцях, які утримувалися в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні за природного режиму освітлення. Доступ до води та їжі був вільним (якщо інше не передбачалося умовами досліду, як це мало місце перед тестуваннями у скіннеровській камері). За результатами фонових досліджень (до впливу чинників опромінення та кверцетину) тварини були розподілені на наступні врівноважені групи:

- контрольні щури (10 тварин);
- щури, які були опромінені у дозі 2,5 Гр (13 тварин);
- щури, які отримували кверцетин (9 тварин);
- щури, які отримували кверцетин та були опромінені у дозі 2,5 Гр (9 тварин).

Щури відповідних груп отримували кверцетин (Acros organics, США) per os впродовж 14 діб перед опроміненням (100 мг*добу⁻¹*тварину⁻¹). Одноразове тотальне γ-опромінення тварин у дозі 2,5 Гр здійснювали за допомогою терапевтичної установи "Рокус" (60 Со; 1,12 Гр/хв). Після опромінення впродовж двох місяців проводили щотижнє тестування тварин у човниковій та скіннеровській камерах.

У човниковій камері досліджували умовнорефлекторну діяльність за модифікованою методикою, з використанням одного безумовного (електричний струм

0,8 мА) та двох умовних подразників: звука (частота 3 кГц, амплітуда 85 дБ) та світла (13,5 Вт, локально). Один з умовних сигналів був основним, на який тварина мала здійснити реакцію уникнення, а другий – додатковим, який тварина повинна була віддиференціювати та загальмувати захисну локомоторну реакцію. Значущість подразників змінювалась кожного наступного тестування. Параметри застосування сигналів: тривалість дії умовного подразника до початку дії безумовного – 4 сек, тривалість одночасної дії умовного та безумовного подразників – 10 сек, міжсигнальний період – $25 \pm 22,5$ сек, кількість спроб – 100. Подача основного та додаткового диференціюючого умовних стимулів здійснювалась рандомізовано. Визначали та аналізували наступні показники умовнорефлекторної діяльності: загальну кількість умовних рефлексів активного уникнення (% до максимально можливих), середній латентний період уникнення (сек), кількість спроб до першого умовного рефлексу, кількість міжсигнальних реакцій, кількість спроб до першої міжсигнальної реакції.

У камері Скіннера досліджували показники оперантної діяльності тварин впродовж 20 хв у режимі фіксованого співвідношення, яке збільшували на одиницю через кожен тиждень (щоб уникнути зменшення мотивації). Перед кожним тестуванням тварини зазнавали добової питної депривації. Умовним сигналом було світло, як позитивне підкріплення використовували молоко. Визначали та аналізували показники загальної кількості реалізованих умовних рефлексів (кількість отримання підкріплення) та загальної оперантної активності (кількість натиснень на педаль).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням дисперсійно-регресійного аналізу, який дає змогу визначити напрям та вірогідність впливу кожного з застосованих чинників на поведінкові показники. Рівняння множинної регресії накопичення кумулятивних значень показників мало наступний загальний вигляд:

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot R + a_3 \cdot Q + a_4 \cdot R \cdot Q$$

де: Y – залежна змінна (показник поведінки); a_0 – вільний член (константа); T – чинник часу (доба після опромінення); R – чинник опромінення (1 або 0); Q – чинник застосування кверцетину (1 або 0); a_i – коефіцієнти рівняння множинної регресії (кутові коефіцієнти).

Обробку одержаних даних проводили з використанням ППП Microsoft Excel 2000, Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення. Напрямок впливу досліджуваних чинників на зміни показників активного уникнення, які відбивають рівень умовнорефлекторної діяльності тварин, в цілому був однаковим. Так, проведений регресійний аналіз кумулятивних значень показника кількості умовних рефлексів активного уникнення свідчить про негативний вплив опромінення на досліджуваний показник ($a_2 = -22,9$; $p < 0,05$). Отримування кверцетину збільшувало кількість умовних рефлексів як у неопромінених тварин ($a_3 = 33,8$; $p < 0,01$), так і у опромінених ($a_4 = 18,9$; $p > 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = 29,8$). Взаємодія кверцетину та опромінення виявилася невірогідною, тому позитивну дію антиоксиданту у опромінених тварин слід розглядати як атрибутивний вплив окремих чинників, які обумовлюють утворення та знешкодження вільних радикалів.

Регресійний аналіз кумулятивних значень показника середньої тривалості латентного періоду реакції уникнення свідчить про негативний вплив чиннику опромінення, яке призводило до збільшення досліджуваного показника ($a_2 = 0,45$; $p < 0,01$). У неопромінених тварин застосування кверцетину не впливало на обговорюваний показник ($a_3 = -0,21$; $p > 0,01$). Натомість чинник взаємодії кверцетину та опромінення виявився вірогідним ($a_4 = -0,48$; $p < 0,05$), що врешті-решт і обумовлює зменшення цього показника у опромінених тварин, які отримували кверцетин у порівнянні з контролем ($\Sigma a_2 - a_4 = -0,24$).

Визначені коефіцієнти рівняння множинної регресії дають підстави стверджувати що опромінення сповільнює швидкість навчання у опромінених щурів ($a_2 = 42,8$; $p < 0,001$), в той час як рівень показника кількості спроб до першого умовного рефлексу у неопромінених тварин, які отримували кверцетин, у порівнянні з контролем зменшувався ($a_3 = -22,6$; $p < 0,05$). В той же час у тварин, які отримували кверцетин та були опромінені зменшення обговорюваного показника мало значно меншу вираженість ($a_4 = -24,4$; $p > 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = -4,2$).

Показники поведінки уникання, які відбивають збудженість тварин під впливом застосовуваних факторів змінювалися вельми подібно один до одного. Так, опромінення не впливало на показник загальної кількості міжсигнальних реакцій ($a_2 = 3,9$; $p > 0,05$), а застосування кверцетину збільшувало цей показник як у неопромінених, так і у опромінених щурів ($a_3 = 30,3$; $p < 0,01$) ($a_4 = -21,1$; $p > 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = 13,1$). Вплив чинників опромінення та взаємодії кверцетину та опромінення на показник кількості спроб до першої міжсигнальної реакції також виявився невірогідним ($a_2 = -4,1$; $a_4 = 22,0$; $p > 0,05$), а фактор отримання антиоксидантного засобу зменшував цей показник як у неопромінених, так і у опромінених тварин ($a_3 = -34,7$; $p < 0,01$) ($\Sigma a_2 - a_4 = -16,8$).

Вплив досліджуваних чинників на зміни показників оперантної діяльності у камері Скіннера можна описати наступним чином. Регресійний аналіз кумулятивних значень отримання підкріплення свідчить про негативний вплив чиннику опромінення, який призводив до зменшення досліджуваного показника ($a_2 = -27,5$; $p < 0,05$). У неопромінених тварин застосування кверцетину не впливало на даний показник ($a_3 = 19,1$; $p > 0,05$). Натомість чинник взаємодії кверцетину та опромінення виявився вірогідним ($a_4 = 71,0$; $p < 0,01$), що обумовлює збільшення отримання підкріплення у опромінених тварин, які отримували кверцетин у порівнянні з контролем ($\Sigma a_2 - a_4 = 62,6$).

За результатами регресійного аналізу кумулятивних значень показника кількості натиснень на педаль можна зробити висновок про негативний вплив чиннику опромінення, який пригнічував оперантну діяльність ($a_2 = -227,8$; $p < 0,05$). Фактор застосування кверцетину у неопромінених тварин не змінював обговорюваний показник ($a_3 = -98,0$; $p > 0,05$), тоді як чинник взаємодії кверцетину та опромінення обумовлював зменшення постпроменевих змін оперантної діяльності у тварин, які отримували кверцетин ($a_4 = 278,3$; $p < 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = -47,5$).

Рівень умовнорефлекторної діяльності у тварин різних експериментальних груп після опромінення представлено на рис. 1.

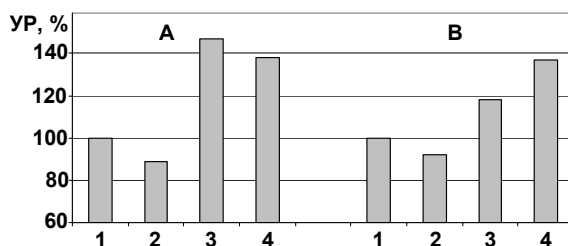


Рис. 1. Рівень умовнорефлекторних відповідей у тестуванні з використанням човникової (А) та скіннеровської (В) камер у різних експериментальних групах тварин: 1 – контроль (прийнято за 100%), 2 – 2,5 Гр, 3 – кверцетин, 4 – 2,5 Гр + кверцетин

Таким чином, із застосуванням різних методичних підходів дослідження інструментальної поведінки, виявлено зниження рівня умовнорефлекторної діяльності тварин після опромінення у дозі 2,5 Гр. Так, регресійний аналіз усієї сукупності даних, одержаних під час щотижневих тестувань тварин впродовж двох місяців після опромінення, показав, що радіаційний чинник зменшує кількість умовних рефлексів активного уникнення, уповільнює швидкість переробки навички та збільшує тривалість латентного періоду реакції уникнення у човниковій камері. Аналогічний ефект виявлено і за результатами тестування тих самих тварин у скіннеровській камері: вплив опромінення призводив до зниження рівнів оперантної активності та кількості реалізованих умовних рефлексів.

Вплив застосованого антиоксидантного засобу кверцетину ефективно попереджував зменшення показників інструментальної діяльності щурів після опромінення у дозі 2,5 Гр. Можна припустити, що цей модифікуючий ефект пов'язано зі зменшенням впливу утвореного внаслідок опромінення надлишку вільних радикалів. Про це, зокрема, свідчить і відсутність взаємодії між чинниками опромінення та застосування кверцетину, що дає підстави розглядати кінцевий ефект як атрибутивний вплив застосованих факторів у змінах поведінки уникання. Однак за умов дослідження інструментальної діяльності з позитивним підкріпленням, навпаки, знайдена взаємодія між чинниками опромінення та застосування кверцетину вказує на те, що позитивний ефект кверцетину може бути не пов'язаним прямо з його антиоксидантними властивостями. Цікаво, що застосування кверцетину у неопроміненіх тварин, призводить до збільшення показників інструментальної поведінки уникання, але не впливає на рівень умовнорефлекторної діяльності у камері Скіннера. Складається враження, що позитивний ефект кверцетину на показники інструментальної поведінки уникання певною мірою може реалізовуватися внаслідок підвищення збудливості тварин (про це свідчить виявлений вплив цього фактору на показники кількості між сигнальних реакцій та кількості спроб до першої між сигнальної реакції). Не

виключено, що підвищення рівня показників поведінки уникання у неопроміненіх тварин, які отримували кверцетин, у порівнянні з контролем може бути пов'язано із стресовим впливом процедури тестування тварин у човниковій камері. Тоді стає зрозуміло відсутність впливу ізолюваного чиннику застосування кверцетину за умов дослідження інструментальної поведінки менш "жорсткою" методикою: умовнорефлекторна діяльність з позитивним підкріпленням у камері Скіннера не супроводжується створенням конфліктної ситуації та застосуванням больового підкріплення, як це має місце при застосуванні методики човникової камери [4].

Висновки. Проведені пролонговані дослідження умовнорефлекторної інструментальної поведінки щурів у човниковій та скіннеровській камерах показали, що однократне тотальне γ -опромінення у дозі 2,5 Гр пригнічує показники інструментальної діяльності тварин, а застосування кверцетину впродовж двох тижнів перед опроміненням може попереджати постпроменеві зміни умовнорефлекторної поведінки щурів

1. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. – К., 2006. – 462 с.
2. Бутилін В.Ю., Шептицька А.М. Профилактична ефективність антиоксидантної терапії: світовий досвід тривалих досліджень // Матеріали симпозиуму "Діагностика та профілактика негативних наслідків радіації", Київ, 16-17 грудня, 1997 р. – К., 1997. – С. 50–52.
3. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковий Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М., 2000. – 344 с.
4. Савоненко А.В., Зелински К. Зависимость обучения реакции активного избегания от преодоления проблемной ситуации в челночной камере // Журн. ВНД. – 1998. – Т. 48, № 2. – С. 229–239.
5. Agrawal A., Kale R.K. Radiation induced peroxidative damage: mechanism and significance // Indian. J. Exp. Biol. – 2001. – Vol. 39, № 4. – P. 291–309.
6. Deger Y., Dede S., Belge A. et al. Effects of X-ray radiation on lipid peroxidation and antioxidant systems in rabbits treated with antioxidant compounds // Biol. Trace Elem. Res. – 2003. – Vol. 94, № 2. – P. 149–156.
7. Prasad K.N. Rationale for using multiple antioxidants in protecting humans against low doses of ionizing radiation // Br.J. Radiol. – 2005. – Vol. 78. – P. 485–492.
8. Robbins M.E., Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review // Int. J. Radiat. Biol. – 2004. – Vol. 80, № 4. – P. 251–259.
9. Weiss J.F., Landauer M.R. Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals // Toxicology. – 2003. – Vol. 189, № 1-2. – P. 1–20.

Надійшла до редколегії 02.10.06

УДК 57.085.23

Д. Каніболоцький, канд. хім. наук, О. Новосильна, пров. інж.,
Б. Негруцький, д-р біол. наук, М. Мірошніченко, д-р біол. наук

МОЛЕКУЛЯРНА ДИНАМІКА ДРУГОЇ ІЗОФОРМИ ФАКТОРА ЕЛОНГАЦІЇ ТРАНСЛЯЦІЇ 1А ЛЮДИНИ

Методом моделювання за гомологією побудована модель другої ізоформи фактора елонгації трансляції 1А (eEF1A2) людини. Методом моделювання молекулярної динаміки досліджено конформаційну рухливість eEF1A2. Встановлено, що білок характеризується значними неузгодженими коливаннями С α -атомів. Показано, що рухи першого та другого доменів можуть призводити до утворення нової "закритої" конформації. Одержані результати добре узгоджуються з літературними експериментальними даними.

The model of the second isoform of human translation elongation factor 1A (eEF1A2) was constructed using homology modelling method. The conformational mobility of the eEF1A2 was studied by means of molecular dynamics simulation. Amplified non-correlated motions of C α -atoms were characterised. It was determined that reciprocal mobility of domains I and II can lead to formation of a "closed" conformation. The obtained results are in good agreement with literature experimental data.

Вступ. Основна роль фактору елонгації трансляції 1А (eEF1A) полягає у транспортуванні аміноацил-тРНК до 80S рибосоми та участі у відборі коректної аміноацил-тРНК в А сайті рибосоми [1]. Існує дві ізоформи eEF1A ссавців, які ідентичні на 93% [2]. В даній роботі досліджено другу ізоформу фактору елонгації 1А (eEF1A2) людини.

Молекула eEF1A2 ссавців складається з 463 амінокислотних залишків і має чотири модифіковані залишки: N-триметиллізину (M3I) в положеннях 55 та 165 і L-глутаміл-5-гліцерилфосфорилетаноламіну (GPE) в положеннях 301 та 374 [2]. Просторова будова молекули eEF1A2 ссавців на даний час невідома, оскільки одержати кристали цього білка не вдалося. Одним з можливих пояснень складності кристалізації eEF1A2 є його висока конформаційна рухливість. Знання трьохмірної будови eEF1A2 та його динаміки у водному розчині є необхідним для досконалого розуміння функціонування рибосомної фази білкового синтезу у ссавців. Таким чином, завданням роботи було побудувати модель просторової структури eEF1A2 людини та дослідити рухливість молекули цього білка у розчині.

Наразі методом рентгеноструктурного аналізу досліджені eEF1A дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* [3, 4] та архебактерії *Sulfolobus solfataricus* [5]. Оскільки eEF1A2 людини ідентичний факторам елонгації 1А дріжджів та архебактерії на 79,6% та 52,2%, відповідно, це дає можливість використати ці білки як матриці для побудови моделі трьохмірної структури eEF1A2 людини.

Об'єкти та методи досліджень. Трьохмірна модель eEF1A2 людини була побудована за допомогою сервера Swiss-Model (<http://swissmodel.expasy.org/SWISS-MODEL.html>). Одержана модель складається з 442 амінокислотних залишків від Gly2 до Lys443. Амінокислотні залишки дріжджового та архебактеріального факторів елонгації, які гомологічні залишкам 1 та 444-463 eEF1A2 людини, не визначені рентгенографічним методом, тому ці залишки не включені у остаточну модель eEF1A2.

Одержана модель eEF1A2 людини складається з трьох доменів (рис. 1а). До першого домену віднесені амінокислотні залишки Gly2-Pro238, до другого – Pro241-Ser329, до третього – Gln335-Lys443 [6]. Перший домен містить 8 β -тяжів, оточених 8 α -спіралями. Другий та третій домени мають вигляд β -діжок з 9 та 7 β -тяжів, відповідно. При цьому домен I і III, а також II і III розташовані щільно один до одного, тоді як між доменами I і II існує досить об'ємний простір, обмежений з боку домену I петлею Arg69-Leu77, а з боку домену II – послідовністю His295-Gly305.

Водневі атоми аміногруп залишків Lys55 і Lys165 було замінено на метильні групи, тоді як аміногрупи залишків Gln301 і Gln374 замінено на гліцерилфосфорилетаноламіні. Моделювання молекулярної динаміки проводили за допомогою пакету програм Gromacs 3.1.4. Силоне поле Gromos96 43a2 модифікували з додаванням параметрів для залишків N-триметиллізину та L-глутаміл-5-гліцерилфосфорилетаноламіну. Дані топології для нестандартних амінокислотних залишків одержані з використанням серверу PRODRG2 <http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/programs/prodrg/prodrg.html>. З використанням програми pdb2gmx пакету Gromacs 3.1.4 до неуглецевих тяжких атомів приєднані атоми водню. Залишки аргініну, лізину, диметиллізину та N-кінцева аміногрупа були протоновані і отримали заряд +1. Карбоксильні групи залишків аспарагінової і глутамінової кислот та C-кінцевого залишку залишені депротонованими з зарядом -1. В результаті білок одержав сумарний заряд +5. Вибір атому азоту залишків гістидину, до якого приєднували протон, здійснювали з урахуванням оточення, так, щоб уникнути занадто малих відстаней від атома водню до інших атомів, з одного боку, і сприяти утворенню водневих та електростатичних ван-дер-ваальсових зв'язків – з іншого. Залишки гістидину 26, 136, 296, 349, 364 та 367 протоновані в положенні N δ , тоді як His7, 15, 95, 197 та 295 – в положенні N ϵ .

Модель білка розміщували у віртуальному боксі у формі зрізаного октаедру так, щоб відстань від білка до стінок боксу не перевищувала 1,5 нм. Бокс заповнювали моделями молекул води SPC (Single Point Charge). 72 молекули води замінили на іони натрію і 77 – на іони хлору для нейтралізації заряду системи і для моделювання іонної сили 0,1. Мінімізацію енергії системи здійснювали чередуванням алгоритмів "скоріший спуск" та "кон'югований градієнт". Врівноваження молекул розчинника проводили 500 пс, при цьому атоми білка були прив'язані до своїх вихідних координат. Вихідні швидкості атомів генерували з розподілення Максвела. Інтегрування рівняння руху здійснювали з кроком $2 \cdot 10^{-15}$ с. Для електростатичних взаємодій встановлена границя 0,9 нм, тоді як для ван-дер-ваальсових взаємодій встановлена подвійна границя: взаємодії на відстані до 0,9 нм враховувалися на кожному кроці інтегрування, а на відстані від 0,9 до 1,4 нм – на кожному десятому кроці. Електростатичні взаємодії за межами встановленої границі враховували згідно алгоритму PME (Particle-Mesh Ewald sum). Температуру та тиск підтримували рівними 298K та 1 атм за методом Берендсена. Після врівноваження моле-

кул розчинника проводили додаткову мінімізацію енергії системи. Основне моделювання молекулярної динаміки здійснювали з тими ж параметрами, що і врівноваження розчинника, за винятком обмеження координат атомів білка та контролю тиску. Координати записували у вихідний файл траєкторії кожну пікосекунду. Час врівноваження системи (~3000 пс) визначали за графіком середньоквадратичного відхилення поточної конформації від початкової як час досягнення плато. Час врівноваження не враховували при розрахунку середньоквадратичних флуктуацій α -атомів. Одержано сім траєкторій з різними початковими швидкостями атомів: траєкторії 1-4 довжиною 10000 пс, траєкторія 5 довжиною 4015 пс, траєкторія 6 (10419 пс) та 7 (10197 пс). Аналіз траєкторій проводився за такими параметрами:

1) Середньоквадратичне відхилення поточної конформації від початкової за α -атомами. Розрахунок проводили за допомогою програми *g_rms* з пакету Gromacs 3.1.4 після накладання поточних конформацій на початкову.

2) Відстань між центрами доменів (програма *g-dist*).

3) Мінімальна відстань та кількість контактів між залишками Arg69-Leu77 та His295-Gly305 (програма *g_mindist*).

4) Середньоквадратичні флуктуації α -атомів відносно середнього положення (програма *g_rmsf*). Оскільки структурні домени здатні обертатися один відносно одного, розрахунок проводили для кожного домену окремо після накладання поточних конформацій доменів на початкові. Для розрахунку брали ділянки траєкторій довжиною 6000 пс після врівноваження, а саме 4000-6000 пс для траєкторій 1-4, 6 та 7. Дані для різних траєкторій усереднювали.

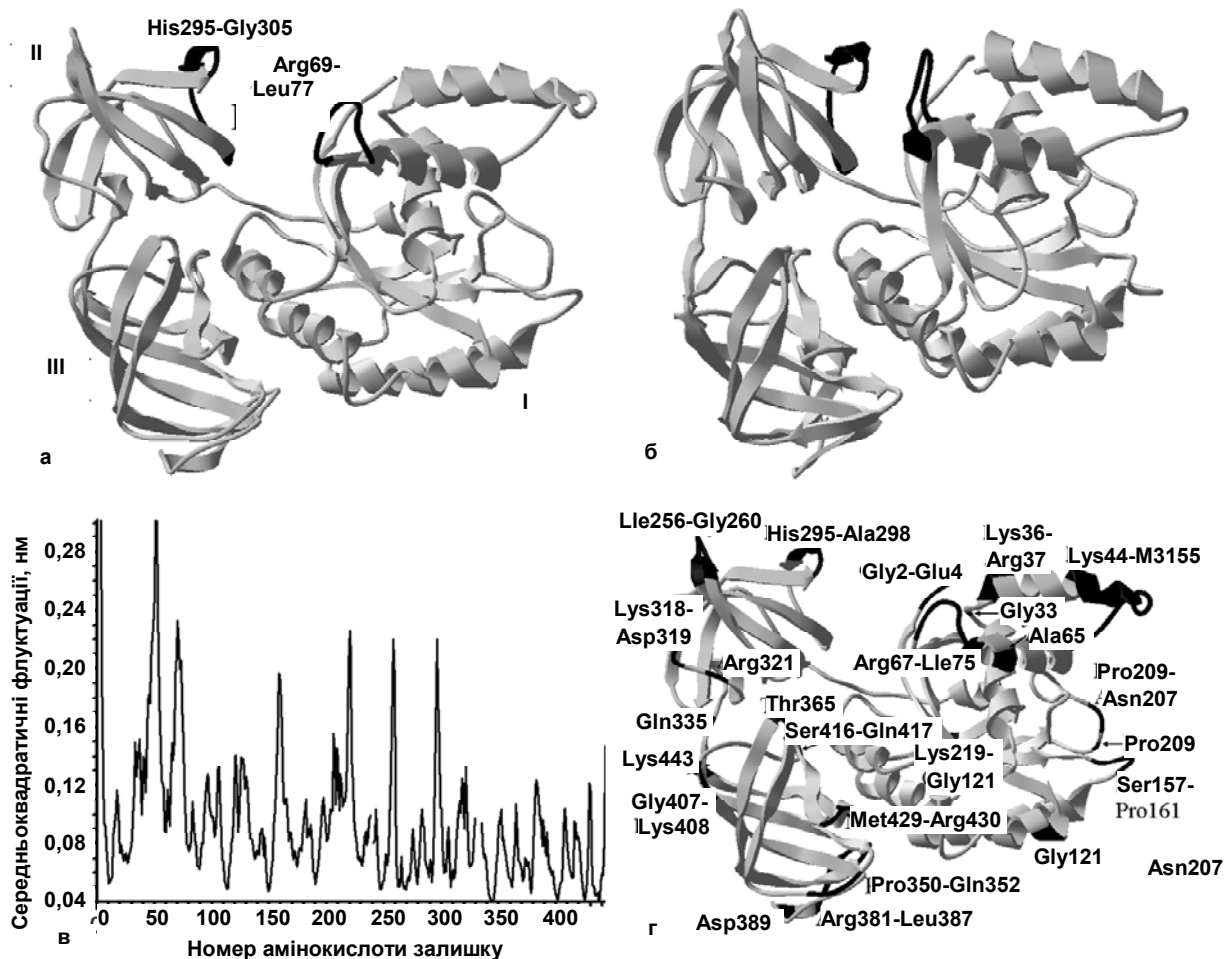


Рис. 1. Трьохмірна структура та середньоквадратичні флуктуації α -атомів фактору елонгації трансляції eEF1A2 людини.
а – відкрита конформація, ділянки Arg69-Leu77 та His295-Gly305, що знаходяться з протилежних боків щілини між домонами I та II, виділені чорним кольором, римськими цифрами позначені номери доменів,
б – закрита конформація на 8000пс траєкторії 4, чорним кольором показані ділянки Arg69-Leu77 та His295-Gly305,
в – середньоквадратичні флуктуації α -атомів (дані усереднені по траєкторіях),
г – амінокислотні залишки з середньоквадратичними флуктуаціями α -атомів більше 0,14нм в домені I, більше 0,11нм в домені II та більше 0,09нм в домені III

Результати та їх обговорення. За результатами аналізу траєкторій молекулярної динаміки eEF1A2 встановлено, що існує обернена кореляція між середньоквадратичними відхиленнями та відстанями між домонами I і II. Так, траєкторія 4 характеризується найбільшими значеннями середньоквадратичного відхилення і найменшими відстанями між домонами I та II, траєкторія 5 має найменші

середньоквадратичні відхилення та найбільші міждомени відстані, траєкторії 3 властиві малі значення середньоквадратичного відхилення та великі значення відстані між домонами I та II. Таким чином, відхилення білка від вихідної конформації супроводжується зближенням доменів I і II. Слід зазначити, що відстані між домонами I і II та між II і III істотно не змінюються.

Взаємне зближення доменів I та II призводить до зменшення щільності між доменами, тобто, фактично між залишками Arg69-Leu77 та His295-Gly305, що знаходяться по краях щільності з боку доменів I та II. Мінімальна відстань між залишками Arg69-Leu77 і His295-Gly305 для траєкторій 1, 2 та 4 зменшується до суми ван-дер-ваальсових радіусів на 9000, 6700 та 1900пс, відповідно. При цьому різко збільшується кількість міжатомних контактів між Arg69-Leu77 та His295-Gly305 практично від нуля до 100-400. Таким чином утворюється повністю закрита конформація eEF1A2 без щільності між доменами I і II (рис. 1б). Слід зазначити, що перехід у закриту конформацію є оборотним, і білок може повернутися назад у відкриту конформацію. Так, eEF1A2 на траєкторії 2 вперше переходить у закриту конформацію на 1060пс, після чого знов переходить у відкриту конформацію і остаточно переходить у закриту форму на 6700 пс. На траєкторіях 3 та 7 eEF1A2 існує у закритій конформації лише короткі проміжки часу 6350-6650 та 7500-7900пс, відповідно. На траєкторії 4 перший перехід у закриту конформацію спостерігається на 1300пс, на 1765пс білок повертається у відкриту форму, на 1900пс знов переходить у закриту і ще раз намагається повернутися у відкриту конформацію на 6584пс.

Раніше було встановлено методом малокутового розсіювання нейтронів, що молекула eEF1A1 стає більш компактною у присутності тРНК [7]. Можна припустити, що аналогічним чином більш компактна закрита конформація eEF1A2 стабілізується своїми біологічними лігандами.

З рис. 1в видно, що найбільші значення середньоквадратичних флуктуацій α -атомів характеризують домен I, найменші – домен III. Це пов'язано з різним розміром доменів: чим більше домен, тим більші значення середньоквадратичних флуктуацій. Амінокислотні залишки з середньоквадратичними флуктуаціями α -атомів більше 0,14нм в домені I, більше 0,11 нм в домені II та більше 0,09нм в домені III, показані на рис. 1 г. Як видно з рисунку, в домені I найбільшими величинами середньоквадратичних флуктуацій (більше 0,14нм) характеризуються амінокислотні залишки у неупорядкованих ділянках (Gly2-Glu4, Gly33, Met49-M3155, Arg69-Ile75, Ser157-Pro161, Pro207-Asn207), на кінці β -шпильки Trp214-Gly225 (Lys219-Gly221) та деякі залишки на α -спіралях (Lys36-Arg37, Lys44-Glu48, Ala65, Arg67-Glu68, Gly121). Слід підкреслити, що залишки Gly33, Lys36-Arg37, Lys44-M3155, Ala65, Arg67-Ile75 знаходяться на рухливій ділянці Cys31-Leu77, яка складається з трьох петель Cys31-Asp35, Met49-Tyr56, Arg69-Leu77 та двох α -спіралей Lys36-Glu48, Ala57-Glu68. Ця ділянка знаходиться з іншого боку щільності відносно домену II та здатна рухатися як єдине ціле. Значною мірою зменшення і закриття щільності між доме-

нами I і II здійснюється саме завдяки рухам ділянки Cys31-Leu77. В домені II найбільші середньоквадратичні флуктуації (>0,11нм) характерні для залишків Ile256-Gly260 та His295-Ala298, які знаходяться на кінцях β -шпильок Asp252-Val264 та Val292-Leu299, а також для Lys318-Asp319 та Arg321 у неупорядкованому ланцюзі Lys313-Gly323. Найбільшу рухливість у третьому домені (середньоквадратичні флуктуації більше 0,09нм) показують залишки Thr365, Arg381-Leu387, Asp389, Met429-Arg430, що знаходяться в β -шпильках Tyr357-Phe373, Leu375-Gly390, Gly422-Val437, а також залишки Gln335, Pro350-Gln352, Lys408, Ser416-Gln417 в неупорядкованих ділянках та Gly407, Lys443 на кінцях β -тяжів.

Висновки. В даній роботі побудована тривимірна модель другої ізоформи фактору елонгації трансляції 1A людини. Методом моделювання молекулярної динаміки в інтервалі 10нс досліджено конформаційну рухливість eEF1A2. Одержано сім траєкторій з різними початковими швидкостями атомів. Показано, що взаємне зближення доменів I та II може призводити до закриття щільності між цими доменами та утворення нової закритої конформації, при цьому перехід у закриту конформацію є оборотним. Подібні зміни конформації можуть брати участь у виявленні для першої ізоформи фактору елонгації компактизації при зв'язуванні з тРНК [7]. Описані найбільш рухливі амінокислотні залишки в кожному з структурних доменів eEF1A2.

Основна частина моделювання молекулярної динаміки проводилася на обчислювальному кластері Київського національного університету імені Тараса Шевченка (www.cluster.univ.kiev.ua). Автори вдячні канд.фіз.-мат.наук О.О. Судакову (радіофізичний факультет Київського національного університету імені Тараса Шевченка) за технічну підтримку у проведенні розрахунків.

1. Negrutskii B.S., El'skaya A.V. Eukaryotic translation elongation factor 1 alpha: structure, expression, functions, and possible role in aminoacyl-tRNA channeling // *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* – 1998. – V. 60. – P. 47–78.
2. Kahns S., Lund A., Kristensen P. et al. The elongation factor 1 A-2 isoform from rabbit: cloning of the cDNA and characterization of the protein // *Nucleic Acids Res.* – 1998. – V. 26, N 8. – P. 1884–1890.
3. Andersen G.R., Pedersen L., Valente L. et al. Structural Basis for Nucleotide Exchange and Competition with tRNA in the Yeast Elongation Factor Complex Eef1A-Eef1Ba // *Mol. Cell.* – 2000. – V. 6. – P. 1261.
4. Andersen G.R., Valente L., Pedersen L. et al. Crystal Structures of Nucleotide Exchange Intermediates in the Eef1A-Eef1Ba Complex // *Nat. Struct. Biol.* – 2001. – V. 8. – N 6. – P. 531–534.
5. Vitagliano L., Masullo M., Sica F. et al. The Crystal Structure of Sulfolobus Solfataricus Elongation Factor 1 Alpha in Complex with Gdp Reveals Novel Features in Nucleotide Binding and Exchange // *EMBO J.* – 2001. – V. 20. – P. 5305.
6. Каниболоцкий Д.С., Новосильная А.В., Неграуцкий Б.С., Ельская А.В. Конформационная подвижность фактора элонгации трансляции eEF1A1 человека // *Биополимеры и клетка.* – 2007. – Т 23, № 4. – с. 307–317.
7. Budkevich T.V., Timchenko A.A., Tiktopulo E.I. et al. Extended conformation of mammalian translation elongation factor 1A in solution // *Biochemistry.* – 2002. – V. 41. – N 51. – P. 15342–15349.

Надійшла до редколегії 05.02.07

УДК 578.3

А. Коренєва, асп.,
Л. Міщенко, д-р біол. наук

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗБУДНИКІВ ВІРУСНИХ ХВОРОБ PANAX GINSENG C.A. MEYER

Проведено моніторинг культурних фітоценозів *Panax ginseng* C.A. Mey. Виділено вірус із насіння та плодів хворих рослин женьшеню. За допомогою методу електронної мікроскопії встановлені форма та розміри вірусних часток.

Monitoring of cultural phytocenoses of *Panax ginseng* C.A. Mey. is carried out. Virus from the seeds and fruits of infected ginseng plants is isolated. The form and length of particles were established with electron microscopy method.

Вступ. Третина лікувальних засобів, що використовуються у сучасній медицині, виготовляється з лікарсь-

ких рослин. Природні сполуки з рослин також застосовуються в харчовій, парфумерній та інших галузях [5].

© Коренєва А., Міщенко Л., 2007

Виключна цінність сировини лікарських рослин вимагає посиленої уваги до їх вирощування.

Рідкісною та надзвичайно цінною лікарською рослиною є женьшень (*Panax ginseng* С.А.Мей.). За лікувальною дією препарати з женьшеню відносять до загальнозміцнюючих, адаптогенних, стимулюючих і тонізуючих засобів, що мають широку терапевтичну дію [1]. Оскільки в природних умовах ареал поширення цих рослин дуже обмежений, для задоволення потреб фармакологічної галузі існує постійна необхідність вирощування женьшеню в культурі. Складність культивування женьшеню пов'язана з вимогами цієї рослини до умов вирощування. На відміну від природних фітоценозів, при інтродукуванні, пристосовуючись до нових кліматичних умов, женьшень стає виснаженим і більш чутливим до фітопатогенів різної природи [6]. На культурних плантаціях женьшеню відмічені грибні, бактеріальні та вірусні хвороби [2, 4, 8, 9, 11].

В умовах промислового вирощування найбільш розповсюджені грибні захворювання женьшеню. Так, в Україні були відмічені фітофтороз, фузаріоз, антрактос та несправжня борошниста роса [11]. Серед бактеріальних хвороб – бактеріальне захворювання листків женьшеню [9], червона, мокра і янтарна гнилі коренів [8].

На сьогоднішній день в Україні існують лише поодинокі повідомлення про вірусні захворювання лікарських рослин. Зазначено, що віруси, у значній мірі впливаючи на стан рослин, приносять господарські збитки та знижують фармакологічну якість сировини [12].

Потрібно відмітити, що широкомасштабних обстежень плантацій женьшеню в Україні на наявність вірусних захворювань не проводилось.

Тому метою наших досліджень було проведення моніторингу культурних фітоценозів женьшеню на наявність вірусної інфекції.

Об'єкт і методи досліджень. Об'єктом досліджень слугували уражені рослини *Panax ginseng* С.А. Мей. сорту Український – 2. Зразки уражених органів рослин женьшеню відбирали на плантаціях дослідної станції Боярського лісового господарства Київської області. Методом візуального обстеження були виявлені рослини з характерними симптомами, з яких відібрали зразки листків, насіння та плодів. Для досліджень брали рослини різного віку (1-5-річні) з симптомами ураження.

Виділення вірусів зі зразків проводили згідно методики Brakke [14] у нашій модифікації [7]. Гомогенізували листки, плоди та насіння женьшеню у 10 mM буферному розчині, що містить K_2HPO_4 pH 6,1, у співвідно-

шенні 1:2 з подальшим низькошвидкісним центрифугуванням у режимі 5 тис. об/хв протягом 30 хвилин на центрифугі K-23. pH надосаду доводили до показника 7,5–8,0 за допомогою 1 M NaOH, змішували з 10 mM лимоннокислим натрієм у співвідношенні 1:1. Для розбивання осаду до суміші протягом 30 хвилин на магнітній мішалці додавали 1% від загального об'єму екстракту тритон X-100. У подальшому проводили високошвидкісне центрифугування у режимі 27 тис. об/хв протягом 1,8 години при 5°C на ультрацентрифугі Beckman L5 – 50B. Далі осад ресуспендували в 10 mM лимоннокислому натрію pH 8,0 та залишали на ніч на магнітній мішалці при 4°C. Наступний режим центрифугування становив 5 тис. об/хв протягом 5 хв з подальшим високошвидкісним центрифугуванням у режимі 25 тис. об/хв протягом 3 год через 20%-ву цукрозну подушку. Утворений осад ресуспендували в 10 mM лимоннокислому натрію pH 8,0 та ставили на ніч на магнітну мішалку. Проводили центрифугування у режимі 5 тис. об/хв протягом 5 хв. Вірусомісний матеріал в кількості 2 мл нашаровували на лінійний градієнт цукрози (10–40%), приготований на 10 mM лимоннокислому натрію pH 8,0 та центрифугували у режимі 27 тис. об/хв протягом 3 год. Далі осад ресуспендували в 10 mM лимоннокислому натрію pH 8,0 та залишали на ніч на магнітну мішалку [7, 14].

Препарати для електронної мікроскопії готували за методом негативного контрастування. Для фіксації вірусних суспензій використовували 2% розчин фосфоровольфрамової кислоти в дистильованій воді pH=7,4. Вірусомісний матеріал наносили на сіточки та витримували 2–3 хв [10]. Препарати досліджували за допомогою електронних мікроскопів Jeol Jem 1230 (Японія) та EM-125 (Суми, Україна).

Результати та їх обговорення. При обстеженні плантацій женьшеню ми спостерігали наступні симптоми захворювання: чітко виражену прижилкову хлоротичну мозаїку, помітне звуження листової пластинки, в окремих випадках – затримку росту рослин.

В результаті електронно-мікроскопічних досліджень очищених препаратів різних органів рослин женьшеню нами були виявлені патогени вірусної природи. Серед відібраних нами досліджуваних органів рослин, вірус був знайдений у насінні та плодах. З насіння 4-х річних рослин виділені паличкоподібні структури розміром $460 \pm 20 \times 11,8$ нм. З плодів рослин 4-х річного віку – нитковидні віріони розміром $1150 \pm 20 \times 11,5$ нм (рис. 1).

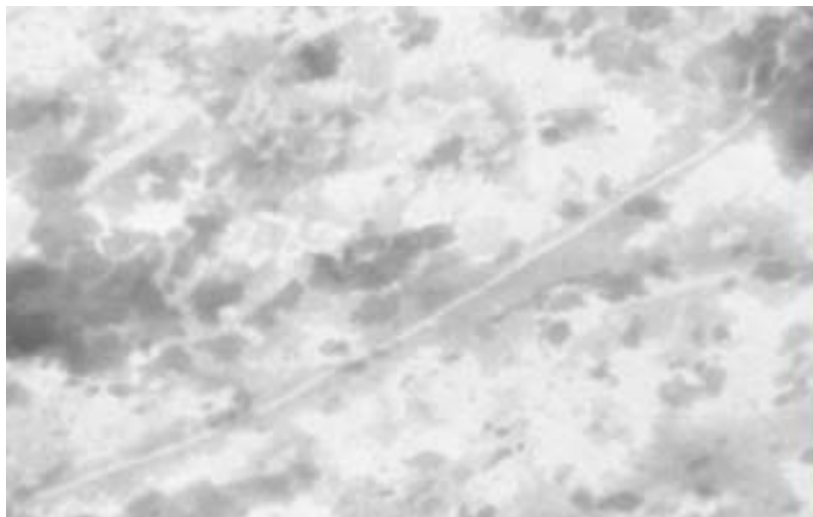


Рис. 1. Електронограма вірусу, виявленого в плодах 4-х річних рослин *Panax ginseng* С.А. Мей. (інструментальне збільшення, $\times 60\,000$)

Відомо, що в природі *Panax ginseng* С.А. Мей. розмножується виключно насінням [3]. У заражених рослин знижується насіннєва продуктивність, що призводить до погіршення якості розсади та зменшення маси коренів порівняно зі здоровими рослинами [13]. Крім того, таке насіння з хворих рослин гірше зберігається і характеризується меншою стійкістю до грибних захворювань. За літературними даними, зі збільшенням віку женьшеню кількість хворих рослин підвищується [13]. Зокрема, відмічено, що захворювання найбільше розповсюджене на плантаціях 4-річних рослин. Проведені нами дослідження методом електронної мікроскопії також дозволили виявити вірусоподібні частки у рослинах саме цього віку. Це може мати негативні наслідки, так як на цьому етапі розвитку рослини починають інтенсивно набирати масу коренів. Отже, віруси можуть погіршувати фармацевтичні властивості лікарської сировини, тому їх дослідження має велике практичне значення.

Висновки. В результаті проведення фітопатологічного моніторингу плантацій женьшеню справжнього (*Panax ginseng* С.А. Мей.) сорту Український – 2 були виявлені рослини з симптомами прижилкової хлоротичної мозаїки та звуження листової пластинки. З насіння хворих рослин виділено паличкоподібний вірус розмірами $460 \pm 20 \times 11,8$ нм та з плодів – нитковидний розмірами $1150 \pm 20 \times 11,5$ нм, які виявлені методом електронної мікроскопії.

УДК.631.11.324:661.63

1. Бабич А.М. Женьшень обыкновенный / В кн. Лекарственные растения: вековой опыт изучения и возделывания – Полтава: Верстка, 2004. – С. 76–77.
2. Бидай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. – Киев: Наук. думка, 1988. – 432 с.
3. Голубева В.С., Дишук Н.Г., Кобзарова В.С. Патогенная микобиота семян женьшеня. – Защита растений, Сб. Научных трудов. – Минск, 2005. – Вып. 30. – ч. 1. – С. 202–204.
4. Коренева А.А., Мищенко Л.Т. Виявлення вірусної інфекції в рослин женьшеню // Екологія: Проблеми адаптивно-ландшафтного землеробства. – Івано-Франківськ, 2006. – С. 213–215.
5. Куценко Н.І. Особливості селекційно-насінницької роботи з малотонажними лікарськими культурами в сучасних умовах // Наук. праці Полтав. держ. аграр. академії. С/г науки. – 2002. – № 1. – С. 66–70.
6. Малышев А.А. Женьшень: Биология и разведение. – М.: Агропромиздат., 1986. – 141 с.
7. Мищенко Л.Т., Бойко А.Л. Вірус смугастої мозаїки пшениці в Україні // Доповіді Національної академії наук України. – 2004. – № 2. – С. 176–180.
8. Мураш В.А., Житкевич Н.В., Жук Е.Г. Бактериальные болезни женьшеня на Украине // Микробиол. журн. – 1994. – 56, № 1. – С. 84–85.
9. Огородник Л.С., Гвоздяк Р.І., Яковлева Л.М. Видовий склад збудників бактеріозів женьшеня в Україні і Білорусі // Вісн. Одес. нац. ун-ту. – 2005. – том 10, № 7. – С. 284–286.
10. Салига Ю.Т., Снітинський В.В. Електронна мікроскопія біологічних об'єктів. – Львів. – 1999. – 152 с.
11. Скребнева Т.М. Женьшень на Украине. – Киев, 1977. – С. 47–56.
12. Хотин Ю.А. Вирусные болезни лекарственных растений семейства пасленовых. Автореф. дис...канд. биол. наук. – М., 1974.
13. Чужан А.Х., Крылов А.В. Влияние некротической мозаики на продуктивность женьшеня *Panax ginseng* С.А. Мей / В кн. Вирусные болезни растений Дальнего Востока. Труды БПИ ДВ НЦ АН СССР, 1976. – т. 25/128. – С. 279–281.
14. Brakke M.R., Shopp R.N. and Lanc L.C. Degradation of Wheat Streak Mosaic Virus Capsid Protein During Leaf Senescence. Phytopathology, 1990. – Vol. 80, № 12. – P. 1401–1405.

Надійшла до редколегії 25.09.06

О. Біда, асп., О. Серга, канд. біол. наук,
Т. Паршикова, д-р біол. наук

ОЦІНКА ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ СОРТІВ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ЗАЛЕЖНО ВІД РІВНЯ ФОСФОРНОГО ЖИВЛЕННЯ

В лабораторних умовах проведено скринінг сортів чутливих до обмежень в мінеральному живленні. Показано, що у рослин в умовах дефіциту фосфору підвищується рівень накопичення МДА, також відмічено пригнічення біосинтезу хлорофілу.

Screening of sorts sensitive to limit of the mineral nutrition was made in lab conditions. The level of MDA decreased in plants during phosphorus deficiency and inhibition of chlorophyll biosynthesis was noticed.

Вступ. Загальновідомо [1], що необхідність достатньої кількості фосфору для рослин тісно пов'язана з енергетичним обміном, ферментативним каталізом, проникністю клітинних мембран та іншими важливими функціями організму. Як відомо, у більшості ґрунтів, особливо піщаних, фосфор присутній в незначній кількості: загальний його вміст коливається в межах 500–800 мг/кг сухого ґрунту. На органічні сполуки фосфору в ґрунтах припадає від 10–20 до 70–80% всіх його запасів, однак для рослин органічний фосфор стає доступним лише після мінералізації ґрунтовими мікроорганізмами, які відщеплюють неорганічний фосфор за допомогою ферменту фосфатази.

Рослини поглинають тільки розчинний фосфор в у формі ортофосфату (H_2PO_4^- або HPO_4^{2-}). Вирішальну роль у доступності фосфору для рослин відіграє рН ґрунтів [2]. Так, у кислих ґрунтах (рН нижче 6,8) присутні водорозчинні легкодоступні солі фосфатного аніону H_2PO_4^- і одновалентних катіонів K^+ , Na^+ , NH_4^+ , а також однозаміщений ортофосфат кальцію $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$, розчинний у воді й легко доступний рослинам. У ґрунтах із рН в межах 6,8–7,2 переважає фосфор у менш доступній формі HPO_4^{2-} , його солі з двохвалентними катіонами, наприклад із кальцієм, розчиняються

під дією кислот, й лише після цього можуть бути використані рослинами.

У лужних ґрунтах із рН вищим 7,2 переважають трьох замінених фосфати дво- і тривалентних катіонів, наприклад, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, практично нерозчинні у воді й тому недоступні рослинам.

На Україні в ґрунтах сільськогосподарського призначення спостерігається дефіцит доступних форм фосфору [2]. В зв'язку з цим при невисоких дозах внесення фосфору (менше 12–15 кг P_2O_5 на 1 га посівів) у багатьох районах спостерігається зниження ефективності використання й азотних та калійних добрив. Отже, використання збалансованих за складом мінеральних добрив стає досить дієвим засобом впливу як на хімічні, фізичні, біологічні властивості ґрунту, так і на живлення рослин, їхній ріст і розвиток, стійкість до несприятливих умов довкілля, а також урожай та його якість. Одним з перспективних шляхів вирішення цього питання може бути впровадження в сільське господарство нових, більш витривалих та стійких до обмежень в кількості елементів мінерального живлення сортів пшениці.

Метою даної роботи була оцінка чутливості процесів росту та розвитку нових сортів пшениці, запропонованих для сільськогосподарства, до різних рівней за-

безпечення фосфором, а також визначення реакцій цих рослин при фосфорному голодуванні.

Методика. Об'єктами досліджень були нові, перспективні, але в багатьох фізіологічних аспектах маловивчені сорти озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) – Сирена, Лузанівка (одеської селекції), а також Смуглянка, Донська, Київська остиста (миронівської селекції). Дослідні рослини вирощували на промитому та прожареному кварцовому піску на середовищі Хогленда-Арнона [3] з мікроелементами без внесення фосфорних добрив, тим самим моделюючи умови гострої, але не повної недостатності фосфору, оскільки 1 кг піску містив 2,3 мг P_2O_5 , визначеного за Кірсановим [3]. Контролем слугували варіанти з внесенням фосфору в дозі 31 мг/г P_2O_5 на кг субстрату, тобто вирощені в умовах оптимального мінерального забезпечення. Для оцінки фізіологічного стану рослин визначали загальний вміст основних фотосинтезуючих пігментів (хлорофілів та каротиноїдів) фотометричним методом за методикою Арнона [4]. Активність процесів перекисного окислення ліпідів в рослинних тканинах визначали спектрофотомет-

рично по кольоровій реакції з тіобарбітуровою кислотою за кількістю утворення кінцевого продукту окислення – малонового діальдегіду (МДА) за методикою [4].

Біологічна повторність дослідів 3-х кратна. Математичне опрацювання одержаних результатів здійснювали з використанням методів статистичного аналізу [5]. Висновки робили на підставі критерію Стюдента при довірчій імовірності $P=0,95$.

Результати. Як свідчать отримані експериментальні різні фони забезпеченості фосфором – дефіцитний і оптимальний впливали на ріст та розвиток рослин пшениці. В дослідних варіантах було відмічено пригнічення біосинтезу хлорофілу, зниження рівня накопичення МДА, що свідчило про уповільнення окислювальних процесів в органах рослини, обумовлених кисневими радикалами. Ступінь появи цих показників реєструвалася в різних масштабах у Р-дефіцитних та нормальних рослин.

Загальна втрата хлорофілів $a + b$ у Р-дефіцитних екземплярів складала близько 25-30% порівняно з контролем (рис. 1).

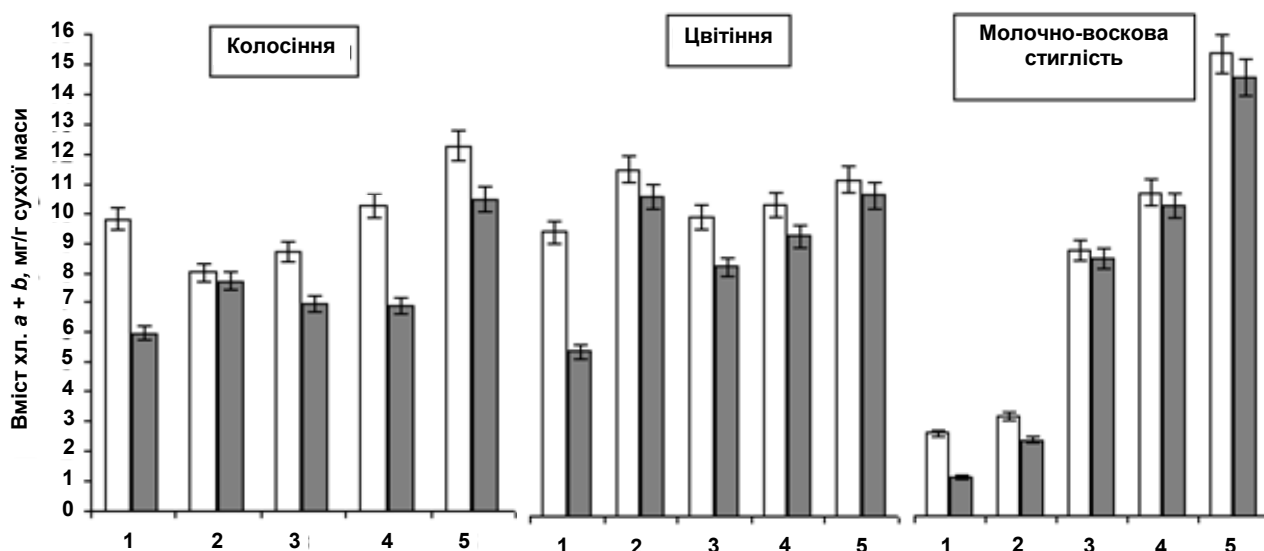


Рис. 1. Зміни вмісту хлорофілів $a + b$ в паростках пшениці на різних фазах її розвитку. 1 – Сирена, 2 – Смуглянка, 3 – Лузанівка, 4 – Донська, 5 – Київська остиста. □ – сорти NPK, ■ – сорти NK

Проведені досліді свідчать, що найбільш стійким до фосфорного дефіциту виявився сорт Київська остиста, оскільки рівень хлорофілу у Р-дефіцитних рослин майже не змінився відносно контролю, а найменш стійким – сорт Сирена одеська. Це підтверджено значною розбіжністю показників контрольного та дослідного варіантів. Сорти Лузанівка, Смуглянка і Донська виявили середню чутливість до фосфорного забезпечення.

Встановлено підвищення вмісту каротиноїдів в клітинах рослин різних сортів в умовах дії стресових чин-

ників. Цей показник був найвищим у сорту Сирена одеська, а найнижчим – у сорту Київська остиста (рис. 2).

Деградація хлорофілу супроводжувалась накопиченням в тканинах рослин МДА, вміст якого у Р-дефіцитних рослин значно зріс порівняно з контролем, причому стійкий сорт Київська остиста мав найнижчий вміст МДА у дослідному та контрольному варіантах, а сорт Сирена – найвищий порівняно з іншими сортами (рис. 3).

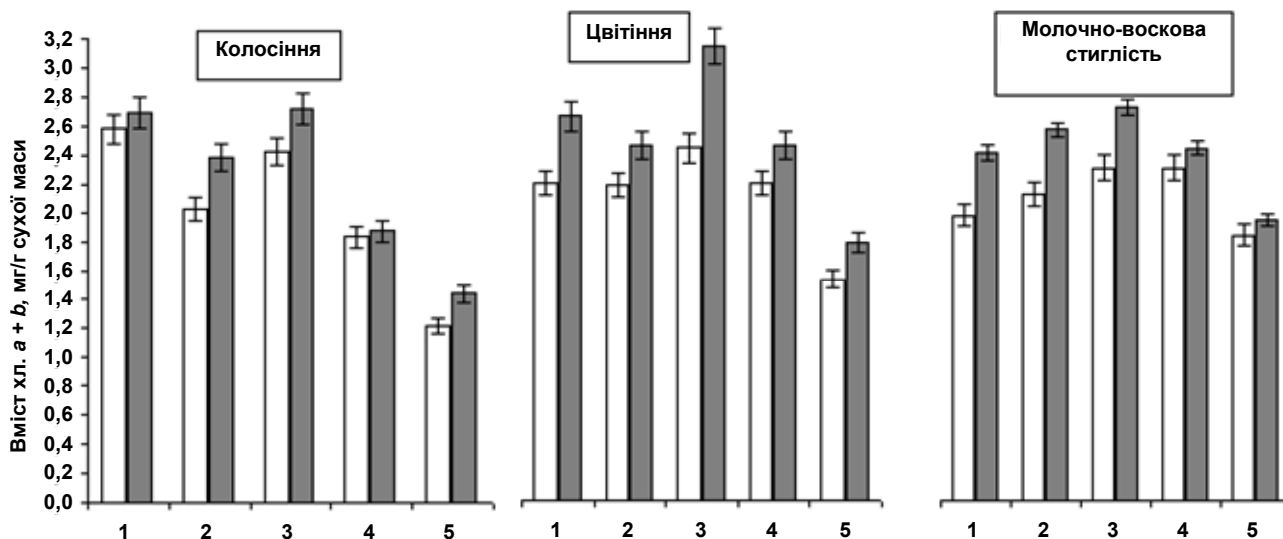


Рис. 2. Зміни вмісту каротиноїдів в паростках пшениці на різних фазах її розвитку: 1 – Сирена, 2 – Смуглянка, 3 – Лузанівка, 4 – Донська, 5 – Київська остиста. □ – сорти NPK, ■ – сорти NK

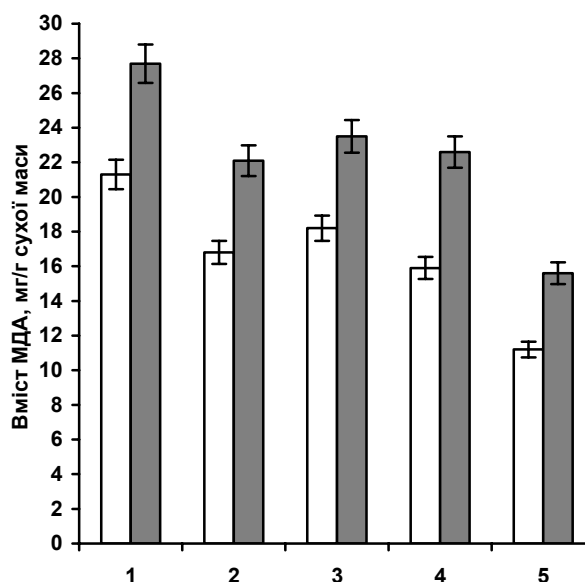


Рис. 3. Зміни активності окислювальних процесів в різних сортах пшениці залежно від фосфорного навантаження: 1 – Сирена; 2 – Лузанівка; 3 – Смуглянка; 4 – Донська; 5 – Київська остиста. □ – сорти NPK, ■ – сорти NK

Висновки. При проведенні оцінки сортів щодо чутливості їх до мінерального забезпечення виявилось, що важливими структурно-функціональними маркерами фізіолого-біохімічних реакцій відгуку рослини є фотосинтезуючі пігменти та інтермедіати пероксидного окислення ліпідів. Одним із шляхів реалізації пристосувальних реакцій адаптаційного синдрому дослідної пшениці може бути трансформація ліпід-пігментних компонентів фотосинтетичних мембран, а також регулювання інтенсивності їх пероксидного окислення антиоксидантними системами (зокрема, каротиноїдами), спрямованими на підтримання гомеостазу мембранних структур для забезпечення виконання їх функцій в змінених умовах існування.

Виявлено, що при нестачі фосфорних добрив у рослин буде відбуватися поступова деградація хлорофілів і накопичення в тканинах малонового діальдегіду.

1. Аলেখина Н.Д., Балконин Ю.В., Гаєриленко В.Ф., Гаєриленко В.Ф. и др. Физиология растений. Под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с. 2. Швартау В.В., Гуральчук Ж.З. Мінеральні добрива в Україні. – К.: Логос, 2006. – 203 с. 3. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. – Киев: Наук. Думка, 1973–576. 4. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 200 с. 5. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. – К.: МОРФОН, 2000. – 320 с.

Надійшла до редколегії 06.12.06

УДК 547.96: 582.4

Н. Таран, д-р біол. наук, О. Ситар, канд. біол. наук,
Н. Карпенко, канд. біол. наук

ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ НАСІННЯ SORTIB *GLYCINE MAX* (L.) MERR

Наведено дані з результатів електрофорезу запасних білків насіння 8 сортів *Glycine max* (L.) Merr. 5 сортів сої культурної рекомендовано для використання при виробництві соєвого молока і 3 сорти – при виробництві тофу.

The data from seeds' storage proteins electrophoresis of 8 sorts *Glycine max* (L.) Merr. were presented. 5 sorts of soya were recommended for using under production of soya milk and 3 sorts – under production of soycurd.

Вступ. Використання методів біохімічної трансформації дає можливість отримання перспективних генотипів сільськогосподарських рослин з підвищеним вмістом білка, який характеризується високою біологічною і харчовою цінністю. Серед численних видів бобових вирізняється соя культурна, що містить найбільш цінний білок, покращення харчової цінності якого є актуальною проблемою сьогодення. Більшість виробничих сортів сої містять 30–40% запасного білка, пептидний склад якого відрізняється сталістю, внаслідок чого його використовують як еталон при реєстрації та ідентифікації насіння бобових.

Об'єкт і методи досліджень. Об'єктом досліджень було насіння 8 сортів сої культурної (*Glycine max*): Одесь-

ка-150, Берегиня, Донька, Аркадія Одеська, Альтаір, Хаджибей, Мар'яна та Чорнобура, отримане із Селекційно-генетичного інституту м. Одеса, Україна. Електрофорез запасних білків проводили за методикою Леммлі (у модифікації Конарєва) [1].

Результати та їх обговорення. Електрофорез в поліакриамідному гелі з додаванням додецил-сульфат-натрію та меркаптоетанолу дозволяє фракціонувати білки в залежності від значень лише одного параметра – молекулярної маси їх фракцій. Електрофореграма білкових спектрів насіння різних сортів *G. max* представлена на рис. 1.

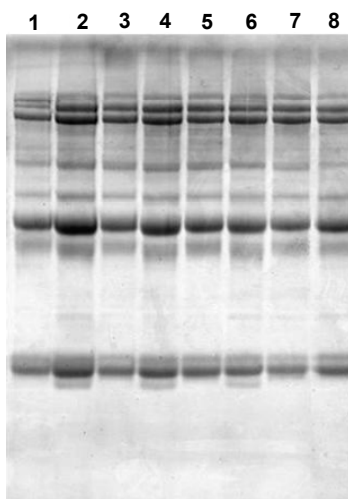


Рис. 1. Електрофореграма спектрів запасних білків насіння сортів *G. max*:
1 – Одеська-150, 2 – Берегиня, 3 – Донька,
4 – Аркадія Одеська, 5 – Альтаір, 6 – Хаджибей,
7 – Мар'яна, 8 – Чорнобура

При використанні електрофоретичного аналізу для ідентифікації сортів сої розрізняють наступні білкові зони: альбуміни, віцеліни, кислі та основні легуміни [1]. Запасний білок сої гліцинін складається з 6 субодиниць з молекулярною масою від 340 до 375 кДа. В свою чергу кожна субодиниця складається з одного кислого (А) і одного основного (В) поліпептиду, які пов'язані між собою дисульфідними містками. Як відомо, в стабільному спектрі насіння культурної сої розрізняють три основних компоненти: α -конгліцинін (коефіцієнт седиментації 7S) та А- і В-субодиниці гліциніну (коефіцієнт седиментації 11S) з відносною електрофоретичною рухливістю (ВЕР) 0,10; 0,50; 0,90 відповідно [1].

При проведенні електрофоретичного аналізу сумарних білків сортів насіння сої культурної нами було ідентифіковано 12 характерних компонентів (рис. 2). Встановлено, що в усіх спектрах різних сортів сої наявні компоненти з ВЕР 0,10 (пік №1) та ВЕР 0,13 (пік №2), що відповідають субодиниці α -конгліциніну. Відмічали наявність неідентифікованих, але характерних для всіх культурних сортів сої компонентів з ВЕР 0,16 (пік №3) та ВЕР 0,18 (пік №4). Виявлено компоненти у фракції віцелінів з ВЕР 0,33 та з ВЕР 0,36 (піки №5, №6), фракції кислих легумінів з ВЕР 0,42 та ВЕР 0,53 (піки №7 та №8) та основних легумінів (піки №9-12).

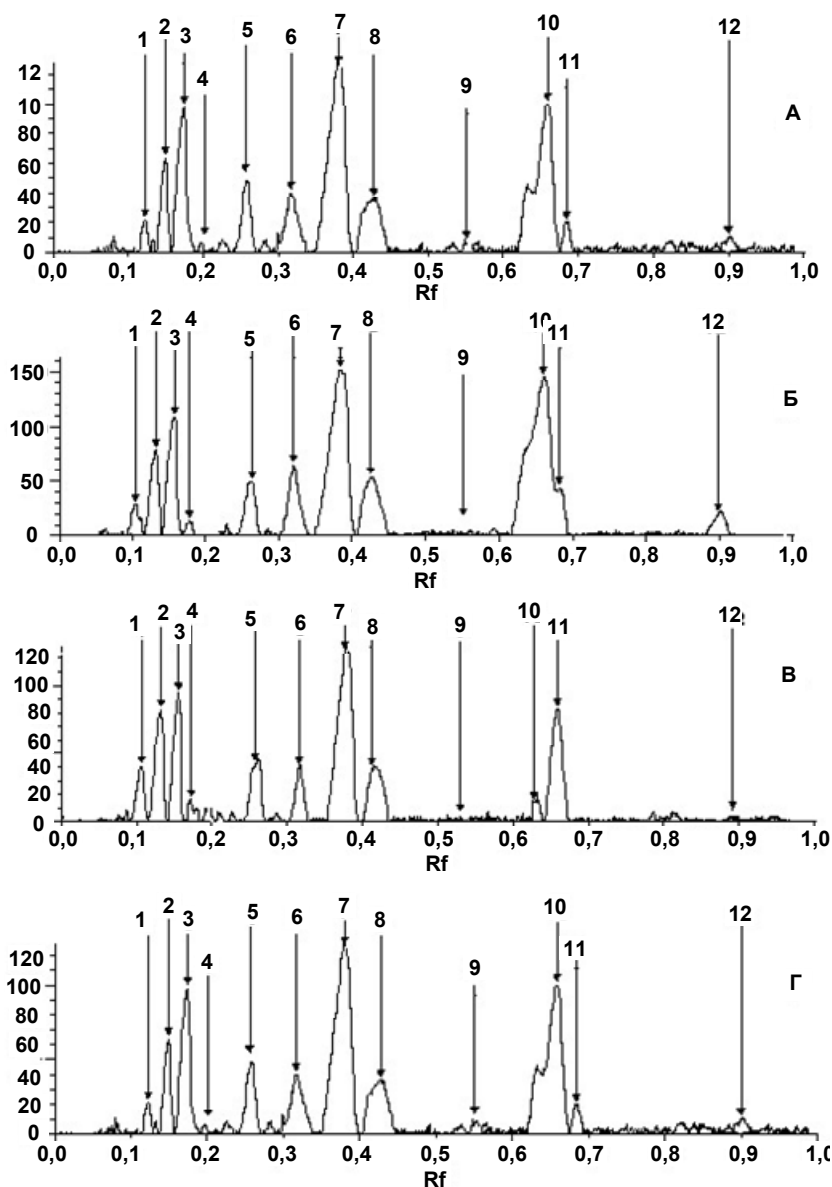


Рис. 2. Денситограми сумарного спектру білків сої сортів Аркадія Одеська (А), Донька (Б), Альтаїр (В), Хаджибей (Г)

У сортів Альтаїр, Одеська 150, Аркадія Одеська, Донька, Хаджибей відмічено значно меншу інтенсивність зони з ВЕР 0,53 у фракції кислих легумінів (пік №8) у порівнянні зі стандартним спектром поліпептидів насіння сої за Конаревим [1]. Дані сорти є сортами південної селекції, на відміну від сортів Мар'яна та Чорнобура, в яких виявлено значно більшу інтенсивність зони з ВЕР 0,53 у фракції кислих легумінів.

Значно відрізнялись сорти і за інтенсивністю піків, що відповідають компонентам субодиноці α -конгліцініну з ВЕР 0,10 (пік №1) та ВЕР 0,13 (пік №2). Сорти Аркадія Одеська, Альтаїр, Донька, Мар'яна та Чорнобура характеризувались більшою інтенсивністю піків №1 та №2 порівняно з іншими дослідженими сортами. Раніше було встановлено [2], що три із вказаних сортів (Аркадія Одеська, Альтаїр та Донька) характеризуються високим вмістом α -конгліцініну (7S), що підтверджено результатами наших досліджень. Фракція 7S має термопластичні характеристики, які позитивно впливають на виробницт-

во соєвого молока. Сорти Березина, Аркадія Одеська та Хаджибей мають вищий вміст В-субодиноці гліциніну – 11S білка (пік №11). Вказаний білок відіграє важливу роль в утворенні поперечних зв'язків з двовалентними катіонами при формуванні згустків сиру.

Висновки. Таким чином, сорти Аркадія Одеська, Альтаїр, Донька, Мар'яна та Чорнобура, що характеризуються високим вмістом α -конгліцініну (7S білок), можуть бути рекомендовані для використання при виробництві соєвого молока. А сорти Березина, Аркадія Одеська та Хаджибей, що мають вищий вміст В-субодиноці гліциніну (11S білок), – для виробництва тофу.

1. Конарев В.Г. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений. Научное пособие. – Санкт-Петербург, 2000.
2. Сичкарь В.И., Шерстобитов В.В., Адамская В.Г., Цисельская Л.И. Сортные особенности белково-ферментного комплекса и технологические характеристики сортов сои // Хлеб и зерно, Днепропетровск, 2003.

УДК 578.245:577.1113.7:57.086.833

Ю. Пенчук, ас., О. Карпов, д-р біол. наук,
З. Ульберг, д-р хім. наук, О. Молчанець, канд. біол. наук

ТЕХНОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИН-ПРОДУЦЕНТІВ ІНТЕРФЕРОНУ В ДОСЛІДНІЙ УСТАНОВЦІ З ВИКОРИСТАННЯМ ІМОБІЛІЗОВАНОГО ІНДУКТОРУ

В досліді визначені оптимальні значення початкових концентрацій клітин-продуцентів та вмісту сироватки великої рогатої худоби при культивуванні клітин-продуцентів інтерферону в дослідному біореакторі з застосуванням гранульованого імобілізованого індуктору інтерферогенезу (ІММК). Отримані дані можуть бути використані при впровадженні технології виробництва інтерферонів І типу природного походження з застосуванням ІММК в фармацевтичній промисловості.

The experiments have shown the optimal parameters of initial producing cell concentration and the content of bovine serum necessary for interferon producing cell cultivation in an experimental bioreactor using a granulated immobilized interferonogenesis inducer (IMMC). The data obtained may be useful for introduction of natural type I interferons production using IMMC in pharmaceutical industry.

Вступ. У зв'язку з широким використанням в сучасній лікарській практиці препаратів інтерферонів (ІФН) природного походження досить актуальним є вдосконалення технології їх отримання в умовах крупномасштабного виробництва. Ефективність цього процесу обумовлює вдало підібране поєднане використання тих чи інших клітин-продуцентів, а також ефективного індуктору інтерферогенезу. При цьому надзвичайно великого значення набуває дослідне визначення і подальше дотримання оптимальних фізіологічних параметрів культивування клітин-продуцентів в конкретних умовах застосованого біореактору.

Раніш для промислового отримання препаратів ІФН І типу нами був запропонований принципово новий індуктор багаторазового використання – молекулярний комплекс дріжджова РНК-гідрохлорид тилорону, імобілізований на гранулах Сферону (ІММК) [1]. З метою відпрацювання технології отримання у культурах еукаріотичних клітин препаратів ІФН з використанням ІММК нами була сконструйована і випробувана спеціальна дослідна установка, як прототип апаратури для отримання ІФН у виробничих умовах. Була доведена ефективність цієї установки щодо підтримання життєздатності культивованих в ній клітин-продуцентів різного типу, а також підвищена продуктивність синтезу ІФН, у порівнянні зі стаціонарними умовами [2]. Мету даної роботи складо встановлення ряду важливих технологічних параметрів культивування клітин моношарових та суспензійної культур в установці при використанні ІММК, а саме: 1) оптимальної початкової концентрації клітин-продуцентів для ємностей, що використовуються в установці і 2) оптимального вмісту сироватки великої рогатої худоби (ВРХ) для культивування клітин.

Матеріали і методи. Досліди проводили на перещеплюваній лінії клітин тестикулів поросят (ПТП) (НДІ ветеринарії НАСГН України, Київ) (моношарові культури), а також на первинній культурі моноклеарних клітин крові людини (суспензійна культура). Культивування клітин здійснювали, як описано раніш [1]. При вирощуванні клітин використовували сироватку великої рогатої худоби виробництва НВП "Біо-Тест-Лабораторія", Україна.

Інтерферогенний молекулярний комплекс (ІММК) являв собою конструкцію на основі гранул Сферону 300 (Lachema, Чехія) з ковалентно приєднаними до цих гранул молекулами одноланцюгової дріжджової РНК (НПО "Біохімеактив", Латвія), інтеркальованими після приєднання молекулами гідрохлориду тилорону ("Sigma", США). Приготування ІММК здійснювали відповідно [1, 2].

В основі дії дослідної установки для культивування клітин-продуцентів був покладений принцип ролерного перемішування горизонтально закріплених ємностей для культивування. Установка конструювалася як уні-

версальна, в розумінні можливості культивувати як моношарові, так і суспензійні культури. Використовувався циклічний спосіб організації культивування клітин. Опис та схема дослідної установки наведені раніш [2].

Кількість живих клітин у зразках визначали методом виключення барвника живими клітинами при фарбуванні 0,1% розчином трипанового синього в ізотонічному розчині NaCl згідно стандартної методики [3]. Титрування ІФН у зразках проводили згідно стандартної методики [4], використовуючи у якості тест-вірусу вірус везикулярного стоматиту штам Індіана у дозі 100 ТЦД₅₀.

Результати та їх обговорення. Однією з головних задач при розробці біотехнологічних систем культивування клітин ссавців є забезпечення життєдіяльності клітинної популяції *in vitro*, тобто створення необхідних фізичних і хімічних умов оточуючого середовища, що відповідають фізіологічним потребам культури [5]. До найбільш суттєвих факторів ефективного культивування клітин-продуцентів відноситься оптимальна для конкретних дослідних умов початкова концентрація клітин в ємностях біореактору.

Для культивування клітин ми використовували культиватор роллерного типу, принцип роботи якого полягав в обертанні розташованих горизонтально ємностей з моноцитами крові людини, що мають здатність до росту і синтезу ІФН при знаходженні в монодисперсному стані в культуральній суспензії; при культивуванні моношарових культур внутрішня поверхня вказаних ємностей слугувала ростовою поверхнею клітинам. При цьому в обох зазначених випадках важливим було забезпечити контакт якомога більшої кількості клітин з ІММК для подальшої продукції ними ІФН; все це відбувалося у фіксованому об'ємі, який займає живильне середовище у культуральній ємності (у наших дослідних умовах вказаний об'єм складав 15 см³, внутрішня поверхня ємностей дорівнювала 28 см², коефіцієнт заповнення – 0,7). Тому правильний підбір початкової концентрації клітин-продуцентів в ємностях у даному випадку відігравав досить важливу роль в ефективному використанні апаратури для отримання цільового продукту.

Дані експериментального визначення цього параметру моношаровими та суспензійною культурами в ємностях дослідної установки у специфічних умовах біосинтезу ІФН з використанням гранул ІММК у якості індуктору наведені на Рис. 1. Виявилося, що для моношарових культур оптимальна початкова концентрація клітин-продуцентів знаходиться в межах 10⁷ кл/мл (Рис. 1а). У випадку суспензійної культури моноклеарних клітин крові людини оптимальною виявилася концентрація 10⁶ кл/мл (Рис. 1б). Можливо, що така різниця між отриманими величинами пояснюється для моношарових культур, необхідною умовою життєдіяльності яких є

наявність адекватної ростової поверхні для прикріплення, подовженим у часі заповнення цієї поверхні ростучими клітинами до фізіологічно обумовлених меж. Щодо суспензійної культури мононуклеарів крові, які знаходяться в зваженому стані в об'ємі живильного середовища, то зменшення вірогідності здійснення контактів між клітинами та частками ІММК при підвищенні щіль-

ності завису клітин у суспензії вело далі до відповідного падіння здатності клітин до інтерферогенезу. Загалом це явище може бути пов'язане як з високою чутливістю вказаних культур до механічних впливів і зусиль зрізу, які створюються при досягненні гомогенних умов за допомогою обертання валу установки, так і з фізіологічними особливостями досліджуваних клітинних ліній.

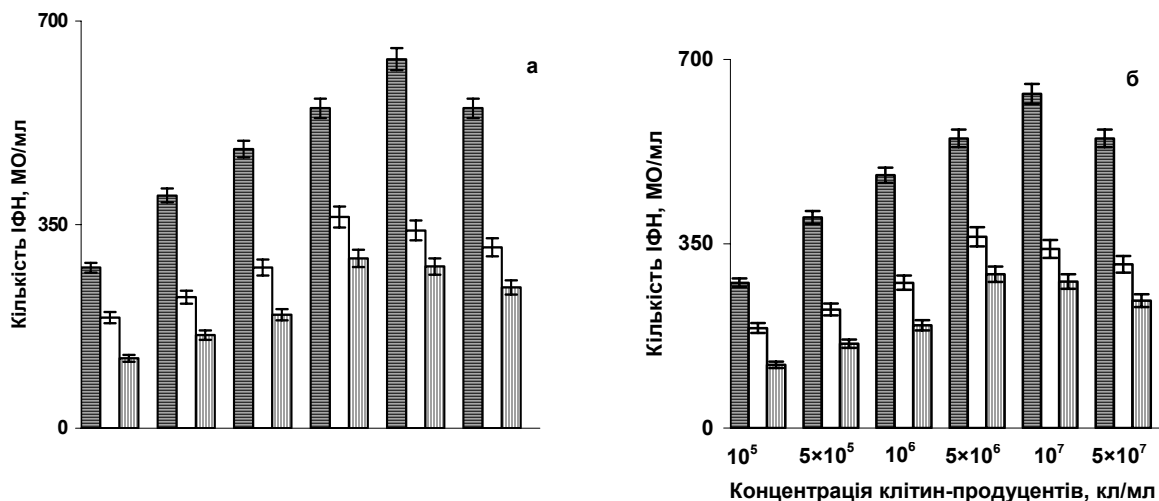


Рис. 1. Залежність рівнів інтерферогенезу моношаровими (а) та суспензійною (мононуклеари крові) (б) культурами клітин-продуцентів від їх початкової концентрації в ємностях для культивування.

Примітки: по осі абсцис – концентрація клітин-продуцентів (кл/мл); по осі ординат – активність індукованого ІФН (МО/мл); [штрихуваний] – ПТП; [білий] – L41; [вертикальні смуги] – L929

Одним з найбільш коштовних елементів живильного середовища для культивування еукаріотичних клітин *in vitro* є сироватка великої рогатої худоби (ВРХ), яка додається до середовища для забезпечення ефективної життєдіяльності клітин-продуцентів і, відповідно, виходу цільового продукту (у нашому випадку ІФН). До головних функцій сироватки відносяться забезпечення гормональними факторами, стимулюючими ріст клітин та їх функції; забезпечення факторами прикріплення і розпластування клітин (тобто, створення біоматриксу для моно шарових культур); забезпечення транспортними білками, які переносять гормони, мінеральні речовини, ліпіди, тощо. Найбільш важливими компонентами сироватки вважаються крупні молекули, а саме білки і зв'язані з ними продукти.

Дослідні дані щодо залежності виходу ІФН від концентрації сироватки ВРХ в живильному середовищі при культивуванні клітин обох типів культур в ємностях дослідної установки представлені на Рис. 2а, б. Встановлено, що за специфічних умов вирощування клітин моношарових культур в установці з використанням ІММК і дотримання знайдених вище величин оптимальної концентрації клітин-продуцентів, оптимальним є вміст сироватки ВРХ на рівні 20% від загального об'єму живильного середовища у ємності. Подальше збільшення кількості внесеної до живильного середовища сироватки ВРХ не призводило до відповідного збільшення виходу ІФН (Рис. 2а), можливо внаслідок обмеженості її доставки до клітин при їх культивуванні у моношарі. Слід враховувати, що у випадку моношарових культур інтерферогенез супроводжувався подальшим досить інтенсивним розмноженням клітин, які, у свою чергу, потребували додаткових поживних речовин, включаючи сироватку ВРХ. При цьому підвищення щільності середовища культивування завдяки подальшому збільшенню концентрації в ньому сироватки ВРХ утруднювало ефективну до-

ставку найбільш фізіологічно важливих високомолекулярних компонентів до цих нових клітин. Це, на наш погляд, могло приводити до встановлення постійної величини інтерферогенезу, що спостерігалася у досліді.

При культивуванні за таких же умов суспензійної культури моноцитів оптимальним для інтерферогенезу ми визначили вміст сироватки ВРХ у живильному середовищі на рівні 25% (Рис. 2б). При цьому, хоча подальше збільшення вмісту сироватки і приводило до деякого збільшення кількості синтезованого ІФН, величина 25% видалася нам найбільш оптимальною, виходячи з того, що з економічної точки зору таке збільшення є недоцільним через непропорційне підвищення собівартості кінцевого продукту – препарату ІФН.

Висновки. При циклічному способі організації культивування клітин-продуцентів ІФН, який використовувався в роботі та використанні гранул ІММК у якості індуктору, рівень біосинтезу ІФН суттєво залежав від правильного підбору початкової концентрації клітин в ємностях біореактора. Дослідно встановлені величини цієї концентрації, а також оптимального вмісту сироватки ВРХ у живильному середовищі при культивуванні клітин моношарових та суспензійної культури.

1. Карпов А.В., Пенчук Ю.Н., Верева С.В. Применение иммобилизованных индукторов в технологии получения природных интерферонов I типа в культурах клеток. Использование гранулярных носителей // Биотехнология – 2006 – № 1 – С. 30–35.
2. Пенчук Ю.М., Карпов О.В., Поводзинский В.М., Верева С.В., Ульберг З.Р. Дослідна установка для отримання інтерферонів I типу з застосуванням багаторазового комплексного індуктору. 1. Оцінка ефективності використання // Биотехнология – 2006 – (в друкі).
3. Doyle A., Griffiths J. Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology. – John Wiley & Sons, 1998. – 332 p.
4. Ершов Ф.И., Новохатский А.С. Интерферон и его индукторы – Москва, Медицина, 1980 – 240 с.
5. Runstadler P.W. The importance of cell physiology to the performance of animal cell bioreactors // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1992 – Vol. 665 – P. 380–390.

Надійшла до редакції 29.11.06

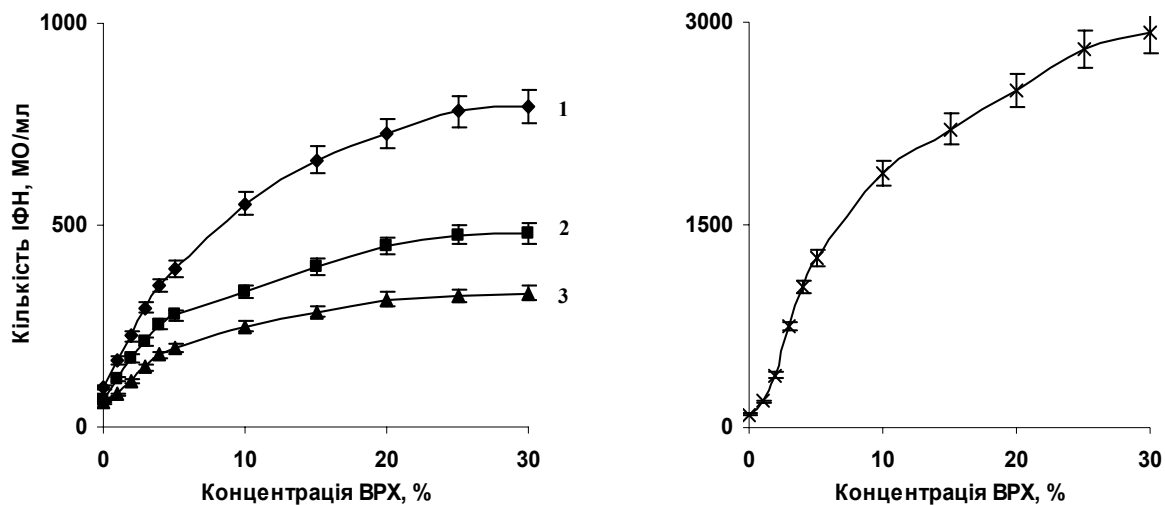


Рис. 2. Залежність рівнів інтерферогенезу моношаровими (а) та суспензійною (б) культурами від концентрації сироватки ВРХ в живильному середовищі.

Примітки: по осі абсцис – вміст ВРХ в живильному середовищі, %; по осі ординат – активність індукованого ІФН (МО/мл); 1 – ПТП; 2 – L41; 3 – L929

УДК 594.38

І. Балашов, студ., Д. Лукашов, канд. біол. наук

НАЗЕМНІ МОЛЮСКИ ПІДСТИЛКИ ШИРОКОЛИСТЯНИХ ЛІСІВ ПРАВОБЕРЕЖНОГО ЛІСОСТЕПОВОГО ПРИДНІПРОВ'Я

Досліджено щільність наземних молюсків та їх видове різноманіття у підстилці широколистяних лісів правобережного лісостепового Придніпров'я. Вивчено домінуючу групу наземних молюсків (*Punctum pygmaeum*, *Cochlicopa lubricella*, *Aegopinella minor*, *Vitrina pellucida*, *Euconulus fulvus*) та деякі їх екологічні особливості. Також досліджені біологічні особливості рідкісного реликтового виду *Sphyradium doliolum* в умовах правобережного лісостепового Придніпров'я.

Density and species diversity of terrestrial mollusks was researched in soil of the broad-leaved forests on right bank forest-steppe Dnieper drainage area. Domination group (*Punctum pygmaeum*, *Cochlicopa lubricella*, *Aegopinella minor*, *Vitrina pellucida*, *Euconulus fulvus*) and some ecology specific of terrestrial mollusks in soil of the broad-leaved forests has been revealed. Biologic specific of rare relict specie *Sphyradium doliolum* in conditions of the right bank forest-steppe Dnieper drainage area was ascertained.

Вступ. Наземні молюски займають значне місце серед деструкторів, які мешкають у лісовій підстилці. При щільності 500 екз./м² наземні молюски переробляють за сезон 35–43% річного опаду [6, 8]. Отже вони мають велике значення у переробці лісової підстилки та ґрунтоутворенні. Видовий склад і щільність наземних молюсків у лісовій підстилці можна використовувати для біоіндикації стану природних і урбанізованих екосистем [3, 10]. Таким чином, вивчення видового складу та щільності наземних молюсків у підстилці широколистяних лісів може представляти значний науковий та практичний інтерес.

Об'єкти та методи досліджень. Кількісні проби лісової підстилки були відібрані з площі 25X25 см (стандартна площа проби для об'єктів таких розмірів) [3, 4]. Окремо враховували живих молюсків та порожні черепашки. Під час дослідження у червні та липні 2004-2005 рр. на території правобережного лісостепового Придніпров'я було зібрано 61 кількісну пробу лісової підстилки. Здебільшого це були проби підстилки грабового лісу на ділянках без виражених форм мезорельєфу та підстилки десяти лісових ярів в околицях Канівського природного заповідника (Черкаська область, Канівський район). Також кількісні проби збирали на ділянках широколистяних лісів в околицях міста Богуслав (Київська область, Богуславський район, 4 проби), в околицях с. Селище (Черкаська область, Корсунь-Шевченківський

район, 3 проби) на Мошногірському кряжі (Черкаська область, Черкаський район, 5 проб) і у Голосіївському лісі (місто Київ, 6 проб). Досліджені лісові яри розділили на дві умовні групи – з постійним стоком води та без такого. Яри з постійним стоком води займають також і значно більшу площу порівняно з ярами без такого. Загалом було зібрано близько 2700 молюсків 26 видів. Кількісні дані у таблицях округлені до цілих частин [3, 4, 9].

Результати та їх обговорення. У кількісних пробах підстилки ділянок без виражених форм мезорельєфу загалом було виявлено 17 видів наземних молюсків. На кожній з таких ділянок було виявлено по 8–14 видів. У кількісних пробах підстилки з лісових ярів у околицях Канівського заповідника було виявлено помітно більше видів – 23.

Максимальна щільність наземних молюсків на ділянках без виражених форм мезорельєфу була зареєстрована на Мошногірському кряжі – 307±93 екз./м² (з урахуванням порожніх черепашок 403±112 екз./м²), мінімальна у Голосіївському лісі – 160±48 екз./м² (з урахуванням порожніх черепашок 221±96 екз./м²) (табл. 1). Помітно більша щільність була зареєстрована у лісових ярах – 883±1344 екз./м² (з урахуванням порожніх черепашок – 1349± 1856 екз./м²) у ярах із постійними струмками та 310±472 екз./м² (546±808 екз./м²) у ярах без постійного стоку води (див. табл. 1).

На всіх ділянках домінуючі позиції займає *Punctum pygmaeum* – від 14 до 48% загальної кількості молюсків

© Балашов І., Лукашов Д., 2007

на ділянці. Також на всіх або майже всіх досліджених ділянках високої щільності досягають представники видів *Cochlicopa lubricella*, *Aegopinella minor*, *Vitrina pellucida* і *Euconulus fulvus* (див. табл. 1). Імовірно, згадані 5 видів є найбільш пристосованими до мешкання у підстилці широколистяних лісів правобережного лісостепового Придніпров'я. Подібні висновки були зроблені А.В. Корнюши-ним при дослідженні грабово-дубових лісів Середнього Придніпров'я [5]. Однак, окрім зазначених видів, ним було також вказано *Perpolita hammonis* [5]. Проте, під час наших досліджень цей вид був виявлений лише на деяких ділянках у невеликій кількості (до 3% від загальної кількості молюсків, див. табл. 1).

Помітно більша кількість порожніх черепашок ніж живих особин для *Ae. minor* і *V. pellucida* (див. табл. 1)

свідчить про те, що найбільшого багатства представни- ки цих видів досягають у інші пори року.

Постійно, але в помітно меншій кількості зустріча- ються також представники видів *Vertigo pusilla* та *Succinella oblonga*.

Представники родини Clausiliidae – *Cochlodina laminata* та *Laciniaria plicata* зустрічаються досить регу- лярно, причому представники другого виду виявлялися приблизно удвічі більшій кількості ніж представники першого (див. табл. 1). Імовірно, наявність чи відсут- ність цього виду в пробі пов'язана з наявністю поблизу від місця збору великої кількості деревини, що розкла- дається, адже остання – типова стація для цих видів [5].

Таблиця 1. Відносна щільність (%) живих наземних молюсків у підстилці широколистяних лісів на різних ділянках правобережного лісостепового Придніпров'я (у дужках сумісно живі молюски і їх порожні черепашки)

Види	Широколистяний ліс на ділянках без виражених форм мезорельєфу					Лісові яри у Канівському заповіднику та околицях	
	Канівський заповідник	Мошнігівський яр	Ліс в околицях м. Богуслав	Околиці с. Селище	Голосіївський ліс	Яри з постійним стоком води (4 яри)	Яри без постійного стоку води (6 ярів)
<i>Carychium tridentatum</i>	-	-	-	-	4 (4)	22 (22)	0,5(0,5)
<i>Succinella oblonga</i>	-	1 (1)	5 (7)	-	5 (3)	1 (1)	- (2)
<i>Sphyradium dolium</i>	-	-	-	-	-	0,5(0,5)	12 (12)
<i>Acanthinula aculeata</i>	1 (1)	-	-	-	6 (6)	4 (4)	4 (3)
<i>Vallonia costata</i>	4 (4)	9 (9)	-	-	-	21 (18)	13 (14)
<i>Vallonia pulchella</i>	-	-	-	-	-	1 (1)	-
<i>Cochlicopa lubrica</i>	-	-	-	-	30 (34)	-	-
<i>Cochlicopa lubricella</i>	25 (23)	3 (3)	25 (19)	22 (19)	-	9 (8)	2 (3)
<i>Pupilla muscorum</i>	-	-	-	-	-	- (0,5)	-
<i>Vertigo pusilla</i>	2 (2)	3 (3)	-	13 (9)	-	3 (3)	1 (2)
<i>Columella edentula</i>	-	- (1)	2 (2)	-	4 (3)	1 (1)	- (0,5)
<i>Truncatellina cylindrica</i>	1 (1)	9 (8)	1 (1)	-	-	-	-
<i>Truncatellina costulata</i>	3 (2)	15 (16)	3 (4)	-	-	-	-
<i>Merdigera obscura</i>	-	-	-	-	-	0,5(0,5)	-
<i>Cochlodina laminata</i>	1 (1)	-	-	-	2 (1)	1 (1)	2 (1)
<i>Laciniaria plicata</i>	2 (2)	-	-	-	4 (6)	2 (1)	4 (2)
<i>Punctum pygmaeum</i>	37 (29)	29 (30)	46 (39)	44 (38)	14 (18)	26 (25)	47 (39)
<i>Euconulus fulvus</i>	11 (9)	15 (13)	-	17 (10)	4 (7)	3 (3)	2 (4)
<i>Vitrea contracta</i>	-	-	-	-	-	1 (1)	-
<i>Aegopinella pura</i>	-	-	-	-	-	1 (1)	-
<i>Aegopinella minor</i>	6 (12)	4 (5)	5 (14)	- (13)	13 (8)	2 (4)	4 (6)
<i>Perpolita hammonis</i>	-	3 (3)	-	-	2 (1)	1 (1)	- (0,5)
<i>Morlina glabra</i>	-	-	-	-	-	1 (1)	-
<i>Vitrina pellucida</i>	4 (12)	6 (6)	11 (13)	- (9)	-	0,5 (2)	7 (10)
<i>Deroceras reticulatum</i>	1 (1)	-	-	-	-	-	0,5(0,5)
<i>Arion subfuscus</i>	2 (1)	3 (2)	2 (1)	4 (2)	12 (9)	0,5(0,5)	1 (1)
Щільність екз./м ²	226± 136 (516± 464)	307± 93 (403± 112)	165± 88 (396± 128)	184± 40 (424± 88)	160± 48 (221± 96)	883± 1344 (1349± 1856)	310± 472 (546± 808)

Також на всіх обстежених ділянках у більшій чи меншій кількості відмічено слизняка *Arion subfuscus*. Найбільшої щільності цей вид досягає в Києві у Голосіївському лісі. Можливо, останнє пов'язане зі схильністю цього виду до мешкання у синантропних умовах.

Молюски з роду *Truncatellina* зареєстровані на трьох ділянках, при чому представники *T. cylindrica* у всіх випадках відмічені в дещо більшій кількості ніж *T. costulata*. Цікава знахідка останнього виду, адже він

не відмічався на території Полісся [1] і у степовій зоні, окрім її північної частини – Дніпропетровської області [7]. Імовірно цей вид притаманний саме для лісостепо-вої зони. Також нетиповим для представників цього роду є даний біотоп – зазвичай на Україні вони зустрі- чаються на відкритих сухих ділянках [1].

Представники виду *Cochlicopa lubrica* відмічені лише у підстилці Голосіївського лісу в Києві, де вони займа- ють домінуючі позиції (див. табл. 1). Зазвичай цей вид

на обстежуваних територіях мешкає у заплавлених лісах чи на відкритих ділянках.

На деяких ділянках були відмічені поодинокі черепашки *Euomphalia strigella* (Draparnaud, 1801), *Fruticicola fruticum* (Müller, 1774) і *Cepaea vindobonensis* (Férussac, 1821), проте їх не враховували у зв'язку з їх значними розмірами і для їх кількісного обліку відповідно потрібно досліджувати ділянки значно більшої площі [3, 4, 9]. До того ж у підстилці можна знайти переважно порожні черепашки перерахованих видів.

Як вже відмічалось вище, яри помітно відрізняються більшим видовим різноманіттям і більшою щільністю наземних молюсків від ділянок без вираженого мезорельефу. Таке високе різноманіття було відмічено для ярів Канівського заповідника [2, 5]. Підвищені щільність і видове різноманіття в ярах, імовірно, пов'язані з кількома факторами. В ярах спостерігається підвищена вологість за рахунок стоку води (постійного чи сезонного). Рельєф ярів з крутими схилами уповільнює випаровування, що також підвищує вологість. А наявність високої вологості може допомогти деяким видам пережити тривалі засухи, які можуть нанести суттєвої шкоди популяціям тих самих видів, що мешкають у більш сухих умовах. Деякі види можуть мешкати лише за умов високої вологості. Так *Carychium tridentatum* у ярах із струмками займає домінуючі позиції, а в більш сухих умовах зустрічається рідко і в значно меншій кількості (див. табл. 1). У ярах Канівського заповідника завдяки важкодоступному рельєфу майже не було вирубок, на відміну від оточуючих яри територій. Загалом можна припустити, що яри зазнають меншого антропогенного впливу. Також у ярах спостерігаються не такі значні коливання температури, як на рівнині, що дозволяє молюскам пережити особливо холодну зиму чи спекотне літо. На дні ярів накопичується більше листового опаду ніж за межами ярів, а листовий опад є середовищем мешкання та джерелом харчування для наземних молюсків. Тож умови ярів є сприятливими для мешкання наземних молюсків. Більш детально це питання розбиралося нами раніше [2].

Як і *C. tridentatum*, *Vallonia costata* займає домінуючі позиції в ярах із постійним стоком води, проте на більш сухих ділянках цей вид не рідко зустрічається у досить великій кількості (див. табл. 1).

П'ять видів молюсків відмічені лише у кількісних пробах підстилки лісових ярів із постійним стоком води у кількості $\leq 1\%$ від загальної кількості наземних молюсків. Це *Vallonia pulchella*, *Pupilla muscorum*, *Vitrea contracta*, *Aegopinella pura* та *Morlina glabra*. Останні три види, представники родини Zonitidae, імовірно є досить рідкісними на території правобережного лісостепового Придніпров'я і мешкають переважно у зазначених умовах. Представники виду *V. pulchella* на обстежуваній території зазвичай мешкають у заплавах річок і на відкритих діля-

нках, де їх угруповання досягають досить великої щільності. А представники *Pupilla muscorum* найчастіше зустрічаються на сухих відкритих ділянках [1]. Імовірно знахідка останніх двох видів має випадковий характер.

Рідкісний молюск *Sphyradium doliolum* виявлений лише у одному ярі – Гнилий Балці. Там щільність представників цього виду становила близько 250 екз./м² (32% від загальної щільності наземних молюсків). З чим саме пов'язана наявність такої високої кількості цих молюсків остаточно не зрозуміло. В ярі Гнила Балка не виявлено жодних унікальних особливостей, більше того, він один з найменших досліджених ярів. Можливо, наявність цього виду тут пов'язана з особливостями ґрунту, або з унікальною комбінацією сприятливих для цього виду екологічних факторів, яку не вдалося зареєструвати. Наявність у згаданому ярі великої кількості *Sph. doliolum* являє значний інтерес, адже це рідкісний реліктовий вид, що зустрічається в Україні лише у Карпатах, на Подільській височині та у гірському Криму. Детальніше це питання було розглянуте раніше [2].

Висновки. Таким чином, у підстилці широколистяних лісів на різних ділянках правобережного лісостепового Придніпров'я видовий склад і щільність угруповань молюсків досить подібні. У лісових ярах спостерігається дещо більше видове різноманіття та щільність молюсків. Домінуючими видами досліджених територій є: *Punctum pygmaeum*, *Cochlicopa lubricella*, *Aegopinella minor*, *Vitrea pellucida* і *Euconulus fulvus*. В ярах високої щільності досягають також *Carychium tridentatum* і *Vallonia costata*, причому перший рідко зустрічається за межами ярів з постійним стоком води. У Канівському заповіднику зустрічаються види, які не виявлені за межами лісових ярів. Частина з цих видів рідкісні чи реліктові (*Sphyradium doliolum*, *Morlina glabra*, *Vitrea contracta*).

1. Байдашников А.А. Наземная малакофауна Украинского Полесья. Сообщение 1. Видовой состав и связь моллюсков с растительным покровом // Вестн. Зоологии. – 1992. – № 4. – С. 13–19. 2. Балашёв И.А. Значение лесных оврагов в распространении наземных моллюсков (Mollusca: Gastropoda) Каневской возвышенности // Эколого-функциональные та фаунистические аспекты исследования моллюсков, их роль у биоиндикации stanu навколишнього середовища. – Вип. 2. – 2006. – С. 19–22. 3. Гиляров М.С. Зоологический метод диагностики почв. – М.: Изд-во Наука, 1965. – 277 с. 4. Количественные методы в почвенной зоологии / Под редакцией М.С. Гилярова и Б.Р. Стригановой. – М.: Наука, 1987. – 288 с. 5. Корнюшин А.В. Наземная малакофауна грабово-дубовых лесов Среднего Приднепровья // Труды Зоол. Ин-та АН СССР. – 1988. – Т. 187. – С. 109–120. 6. Піндрус О.М., Яворовський П.П., Лукаш О.В. Біологічні процеси та чинники розкладання листового опаду як основа методики його компостування в зеленому господарстві міста. – К., 2004. – 108 с. 7. Сверлова Н.В., Мартинов В.В., Мартинов А.В. До вивчення наземної малакофауни (Gastropoda, Pulmonata) південно-східної частини України // Наук. Зап. Держ. Природозн. Музею. – Львів, 2006. – Вип. 22. – С. 35–46. 8. Стриганова Б.Р. Питание почвенных сапрофагов. – М.: Наука, 1980. – 244 с. 9. Kerney M.P., Cameron R.A.D., Jungbluth J.H. Die Landschnecken Nord- und Mitteleuropas. – Hamburg-Berlin: Parey, 1983. – 384 s. 10. The Biology of Terrestrial Molluscs / Edited by G.M. Barker. – Hamilton: Landcare Research, 2001. – 560 p.

Надійшла до редакції 18.01.07

УДК 591. 543. 43

Є. Яніш, асп.

ПОРІВНЯННЯ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТІ МЕТОДІВ ОБЛІКУ ВОРОНОВИХ ПТАХІВ (CORVIDAE L.)

Проаналізовано результати обліків воронів птахів на території Сумської області за 2004 рік. Отримані дані щодо щільності популяцій воронів птахів в Сумській області. В результаті порівняння методів обліку враховувані коефіцієнти екстраполяції даних.

Results of corvid birds counts in Symy oblast are analyzed. Data on populations' density of corvid birds in Symy oblast are obtained. Indices of data extrapolation are calculated by comparison of different methods of count.

Вступ. Представники родини Воронові (Corvidae) широко поширені на всій території України. Завдяки

своїй численності та поліфагії воронів відіграють значну роль в екосистемах, а також мають істотний вплив на

господарську діяльність людини. З одного боку, вони виступають як шкідники багатьох сільськогосподарських культур, з другого – в період гніздування знищують велику кількість безхребетних, які самі є шкідниками. Суттєве значення для людини мають добові та сезонні міграції воронів. Зіткнувшись з технікою, птахи наносять значну шкоду. Найважливішими є зіткнення птахів з літаками та ЛЕП [3]. Крім того, всі ворони можуть бути переносниками як вірусних захворювань, так і гельмінтів [4]. Вивчення основних популяційних характеристик воронів проводилися неодноразово, але завдяки пластичності видів постійно відбуваються зміни, особливо в останні роки, що відповідно потребує подальшого вивчення. Існують різні методи обліку птахів, але як правило вони охоплюють відносно невелику територію (за виключенням методу анкетування). Для отримання даних з більшої території, ніж при обліку маршрутним методом, але який виконується одним спостерігачем, на відміну від анкетування, ми пропонуємо проводити обліки з машини та потягу. Для визначення щільності популяцій воронів птахів в Сумській області ми провели обліки як традиційними методами, так й експериментальними, а їх результати були порівняні.

Матеріал та методика. Матеріал був зібраний протягом листопаду-січня 2004 року на території Сумської області. Всього обстежено 427,56 км², з яких 51,16 км² – маршрутним методом. Використовувались методи маршрутного обліку та картографічний [1] (м. Путивль, м. Буринь, с. Волокітино та їх околиці). Крім того, нами були проведені обліки з машини та з потягу. При обліках останніми методами, спостерігач сидить біля вікна, при обліку з потягу – обов'язково обличчям по ходу руху потягу, що значно підвищує результативність обліків, та реєструє всіх помічених в межах облікової смуги птахів. Дослідник відмічає час з точністю до хвилини та найближчі населені пункти чи інші орієнтири для подальшої прив'язки до карти в ході обробки даних. Спостерігач повинен бути кваліфікованим, крім того, спостереження необхідно проводити безперервно протягом декількох годин, що ускладнює застосування цих методів. При спостереженні з потягу облікова смуга нами приймалась за 50 м., в зв'язку з тим, що вздовж залізниць йдуть лісонасадження і поле зору обмежене. При спостереженні з машини облікова смуга була 100 м. В обох випадках спостереження йде тільки з одного боку від спостерігача. Спостереження проводились з ранку й до 13 години дня, в зв'язку з тим, що зграї воронів, такі як грак (*Corvus frugilegus*, L.), сіра ворона (*Corvus cornix*, L.) та галка (*Corvus monedula*, L.) під час зимівлі утворюють численні скупчення (місця збору) перед відльотом до місця ночівлі, що призводить до суттєвого завищення їх чисельності. Крім того, при вирахуванні щільності популяцій зграйних воронів (грак, сіра ворона, галка) також не враховуються скупчення їх понад 200 особин, які часто утворюються під час годування та в гніздовий період, що також призводить до суттєвого завищення результатів. При підрахунках для отримання більш достовірних результатів ми вираховували середню зважену щільності популяцій видів воронів [2] і при порівнянні методів обліку оперували саме цією величиною.

Результати та їх обговорення. Всього нами зареєстровано маршрутним методом: крука (*Corvus corax*, L.) 23 особини (10 пар), сороки (*Pica pica*, L.) 12 ос. (5 пар), галки 35 ос., сойки – 14 ос., сірої ворони – 1 ос., грака – 69 особин. З потягу зареєстровано: крука 14 особини (5 пар), галок 17 ос., сойки (*Garrulus glandarius*, L.) 1 ос., сірої ворони – 1 ос., грака – 3720 особин, з них тільки 220 ос. враховувались при підрахунку щільності популяції, сорок – 0. З машини зареєстровано: крука 30 особини (10 пар), сороки – 2 ос., галки 131 ос., сойки

– 3 ос., сірої ворони – 6 ос., грака – 2163 особини, з яких тільки 458 ос. використовувались при підрахунках.

Ми за максимально наближені до реальної чисельності птахів вважаємо результати, отримані маршрутним методом, тому результати, отримані іншими методами, порівнюємо саме з даними маршрутного, і в подальшому будемо його називати "контрольний метод", а дані, отримані цим методом – "контрольними". Таким чином, ми бачимо, що щільність крука, сороки та грака при обліку маршрутним методом та з машини співставимі. Тому для вирахування щільності популяцій цих видів можливе використання даних, отриманих методом обліку з машини без використання коефіцієнту екстраполяції. Ми вважаємо, що частота зустрічаємості цих видів, достатня для отримання достовірної щільності популяцій, пов'язана з синантропією цих видів, в наслідок якої птахи не лякаються машин і не намагаються їх уникнути. Чисельність сойки суттєво нижче, ніж попередніх видів, крім того вона більш прив'язана до лісних біотопів, тоді як сіра ворона до заплавлів річок, що дає недостатню кількість спостережень для безпосереднього вирахування щільності їх популяцій.

Якщо середня зважена щільності будь-якого виду відрізняється від контролю не більш, ніж в 1,5 рази, ми вважаємо, що ці результати адекватно відображають реальну чисельність виду в даній місцевості, вкладаються в межі варіацій щільності популяцій воронів птахів на території лісостепу України і не потребують використання коефіцієнту екстраполяції. При обліку з машини для сойки щільність виявилась занижена, тоді як галки навпаки, завищена в 3,71 раз. Кількість спостережень сірої ворони при маршрутному обліку недостатня, щоб вважати отримані результати достовірними, тому й порівняння методів обліку по цьому виду ми не проводили. На основі цих результатів ми вираховували усереднений коефіцієнт екстраполяції даних при обліку з машини, який дорівнює 2,33.

Тобто якщо середня зважена щільності популяції сойки, отримана на основі спостереження з машини дорівнює 0,07 ос/км², ми помножимо це число на коефіцієнт 2,33, та отримуємо щільність популяції, рівну 0,16 ос/км², що знаходиться в межах варіацій щільності популяції сойки на території лісостепу. Так, в Київській області щільність складає 0,21-0,33 ос/км², в Вінницькій від 0,08 до 0,29 ос/км² (ці дані отримані маршрутним методом). Завищена щільність популяції галки пов'язана з тим, що під час годування птахи утворюють подібно до граків досить численні скупчення.

В даному випадку ми не маємо достовірного "контролю" для сірої ворони, але нам відома щільність її популяції при обліку з машини – 0,14 ос/км². З використанням коефіцієнту екстраполяції ми отримуємо щільність популяції, рівну 0,33 ос/км², що знов таки відповідає значенням цього показника в інших областях. Так, для Київської області він становить від 0,04 ос/км² на не заплавлених територіях до 16,7 ос/км² в заплаві. Для Черкаської області коливається від 0,5 до 2,16 ос/км², залежно від біотопу (також маршрутний метод). Подібні коливання чисельності пов'язані з тим, що сіра ворона частіше зустрічається в заплавах річок, як і сорока.

При обліку з потягу лише середня зважена щільності галки виявилась співставимою з контролем. Вирахування щільності популяцій всіх інших видів потребує використання коефіцієнту екстраполяції, який при даному методі обліку дорівнює 3,08. Менша достовірність даного методу на наш погляд пов'язана з меншим кутом обзору, порівняно зі спостереженням з машини, а також з тим, що вздовж залізниць висаджені лісосмуги, які суттєво зменшують облікову смугу та потруднюють спостереження. Для отримання більш точних результатів, ми пропонуємо використовувати окремі коефіцієнти екстрапо-

ляції для кожного виду. Для методу обліку з машини вони дорівнюють: крук – 1,24; сойка – 4,28; галка – 3,71; сорока – 1,43; грак – 1,08. Як ми згадували раніше, для крука, сороки та грака можна взагалі не використовувати коефіцієнт екстраполяції при даному методі обліку.

Для методу обліку з потяга: крук – 2,05; сойка – 7,5; галка – 1,09; грак – 1,67. Для визначення щільності популяції сірої ворони для першого та сороки для другого з експериментальних методів в конкретному випадку даних недостатньо. Але у загальних випадках, якщо кількість спостережень мінімальна, але відмінна від нуля, можна скористатися усередненим коефіцієнтом екстраполяції, який вираховували для конкретного методу обліку.

Висновки. Щільність популяції воронових птахів на території Сумської області знаходиться в межах варіа-

цій цього показника на території лісостепу України. Запропоновані нами методи обліку з машини та потягу можна використовувати для отримання даних щодо щільності популяцій воронових птахів з застосуванням коефіцієнтів екстраполяції. Для грака, сороки та крука при обліку з машини можна не використовувати коефіцієнти екстраполяції.

1. Равкин Ю.С. К методике учета птиц в лесных ландшафтах // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. – Новосибирск: Наука, – 1967. – С. 66–75. 2. Лакин Г.Ф. Бометрия. – М.: Высшая школа. – 1980. – С. 40–43. 3. Михеев А.В. Биология птиц. Полевой определитель птичьих гнезд. – М.: Цитадель, 1996. – 456 с. 4. Василевская Л.К. О паразитофауне вороны в Харьковской области // Врановые птицы в естественных и антропогенных ландшафтах. – Липецк, 1989. – Ч. 3. – С. 90–91.

Надійшла до редколегії 28.12.06

УДК 612.821.1+159.983.2

Ю. Горго, д-р біол. наук, Н. Харковлюк-Балакіна, мол. наук. співроб.,
Д. Горлов, студ., Р. Шарафі, асп.

ІНФОРМАЦІЙНІ ОЦІНКИ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПРАЦЕЗДАТНОСТІ ОПЕРАТОРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Досліджено психофізіологічні та вегетативні особливості працездатності операторів різного віку. Виявлено прискорений темп старіння у операторів віком після 40 років на фоні зниження розумової працездатності, що відображає вплив специфіки їх діяльності. Визначено критерії інформаційної оцінки працездатності операторів.

The psychophysiological and vegetative properties of working ability of persons at different age were researched in the present study. The rapid aging was perceived in persons of 40 and older together with decrease in their mental ability, which is induced by specific features of persons' occupation. The criteria of informative estimation of persons' working ability were underlined in the present research.

Вступ. Однією з проблем сучасної фізіології людини є вивчення та оцінка функціональних станів людини в умовах впливів зовнішніх факторів, серед яких суттєвим є професійний. Спектр напрямків досліджень ґрунтується на дослідженні фізіологічних механізмів забезпечення діяльності, з урахуванням особливостей вікових змін [2, 5, 6]. Методична база для вивчення розумової працездатності достатньо ґрунтовно спирається на різні психофізіологічні методи, які дозволяють фіксувати рівень функціональних зрушень систем забезпечення видів розумової праці [4, 6, 7, 8]. Визначення показників розумової діяльності в операторів різного віку з метою розробки заходів профілактики професійного стомлення має важливе прикладне значення і може сприяти рішенню практичної проблеми підвищення професійної працездатності людини. Метою роботи було вивчення особливостей та інформаційна оцінка змін фізіологічних параметрів операторів, зумовлених віком та професійною діяльністю.

Об'єкт та методи досліджень. Обстежено 52 оператора енергостанцій, віком 27–57 роки, діяльність яких проходила в умовах переважного нервово-емоційного напруження. Контрольну групу складали особи творчої праці (n=23), зокрема наукові співробітники, особливості діяльності яких (за класифікацією А.Ю. Навикатикяна [6,9]) полягає у творчому мисленні при помірному напруженні уваги та пам'яті та відрізняється нерівномірністю нервового напруження при виконанні роботи. Темп старіння (ТС) та функціональний вік (ФВ) визначалися за допомогою методики, розробленої в Інституті геронтології АМН України [10]. Розрахунок показників ТС і ФВ проводився за допомогою формули множинної лінійної регресії. Залежною перемінною виступає календарний вік (КВ), незалежною – ряд фізіологічних показників, підбір яких проводився при попередньому дослідженні популяційної вибірки осіб різного віку. Методика визначення ФВ дозволяє розраховувати кількісні характеристики ТС людини. Так, зна-

чення ТС – $1 \pm 0,1$ відповідають нормальному. Відхилення значень ТС від нормального визначається як прискорене – $ТС > 1,1$ чи уповільнене – $ТС < 1$. ФВ організму людини визначався за формулою: $ФВ = ТС * КВ$, де КВ – календарний вік людини. Відхилення значень ФВ на + 5 років від календарного відображає фізіологічне старіння, на +5 – +10 років – передчасне старіння, більш +10 років – прискорене старіння організму людини.

Професійна діяльність моделювалася у вигляді розумового навантаження за допомогою двох послідовних комп'ютерних тестів, які є частиною автоматичної системи психофізіологічної діагностики операторської працездатності, розробленою за участю А.Ю. Бузова [5,9]. Загальна тривалість тестування 10 хвилин. За результатами тестування автоматично розраховувались: середній час вирішення тестового завдання, кількість помилок, продуктивність та надійність виконаного тестового завдання, працездатність розумової діяльності. Вегетативну регуляцію серцевого ритму при розумовому навантаженні вивчали за допомогою автоматизованої системи реєстрації та аналізу кардіоінтервалів (за показником дисперсії). Оцінку працездатності проводили за допомогою інформаційного підходу Ю.П. Горго [3,4], який заснований на визначенні ентропії, як характеристики міри організації фізіологічної системи [3]. Розрахунок показника відносної організації (А) масиву даних (кардіоінтервалів) проводився за формулами з праць Г. Ферстера та Ю.Г. Антом онова [4]: $A = 1 - (H / H_m)$, де: H – поточне значення ентропії за Шенноном $[3] - H = - \sum P_i \cdot \ln P_i = - \sum m_i / N \cdot [\ln (m_i / N)]$, H_m – максимальне значення ентропії – $H_m = \ln n = \ln M$; $M = (X_{\max} - X_{\min}) / \Delta X$, де: P_i – ймовірність прийняття системою i-того стану; n – кількість станів системи; M – кількість класів гістограми; m_i – кількість попадань параметра в певний клас; N – загальна кількість спостережень; $X_{\max}$ – максимальне значення параметру, $X_{\min}$ – мінімальне значення параметру, ΔX – крок квантування. Зміни показни-

ка А відбуваються у межах $1 \leq A \leq 0$. Отримані результати були оброблені методами математичної статистики.

Результати та їх обговорення. Перший етап досліджень припускав розподіл досліджуваних за календарним віком: група KB₁ – до 40 років, група KB₂ – після 40 років. Результати аналізу даних першого етапу дослідження виявили наявність прискореного темпу старіння операторів обох вікових груп, в той час, як в групах контролю темп старіння дорівнював фізіологічному. Спираючись на отриманий факт, на другому етапі було зроблено розподіл операторів за функціональним віком: група FB₁ – до 40 років, група FB₂ – після 40 років.

Слід зауважити, що використання належного способу розподілу обстежених дозволяє досліджувати особливості змін функціональних станів операторів пов'язані саме з впливами специфіки їх діяльності, прояви яких іноді можна спостерігати у обстежених значно молодших за календарним віком. Тобто, середній функціональний вік у обстежених групи FB₂ перевищує середній календарний вік на 10 років, що свідчить про наявність у цій групі прискореного темпу старіння, пов'язаного з напруженою операторською діяльністю. Підтвердження цього факту відображено у таблиці 1.

Таблиця 1. Показники функціонального віку, темпу старіння, розумового навантаження та критерії оцінки працездатності операторів

Показники функціонального віку та темпу старіння	Група FB ₁ – до 40 років		Група FB ₂ – після 40 років	
Середній функціональний вік	37,6±0,7		60,2±2,5	
Середній календарний вік	36,9±1,8		50,2±3,1*	
Темп старіння	1,02±0,09		1,2±0,1	
<i>Показники розумового навантаження</i>	<i>Тест 1</i>	<i>Тест 2</i>	<i>Тест 1</i>	<i>Тест 2</i>
Середній час вирішення тестового завдання, мс	714±22	688±55	1335±127*	1287±184*
Надійність розумової діяльності, %	86,4±5,7	88,9±4,1	60,8±9,7*	56,3±7,8*
Продуктивність розумової діяльності, кількість задач, ум.од.	45,3±1,3	45,6±3,3	27,9±3,3*	28,8±4,3*
Кількість помилок	9,9±1,6	5,7±1,3*	11,2±2,0*	17,9±3,7*
Розумова працездатність, ум.од.	12,1±0,9	14,1±1,3	7,8±0,7*	5,5±0,8*
<i>Критерії оцінки працездатності</i>	<i>Тест 1</i>	<i>Тест 2</i>	<i>Тест 1</i>	<i>Тест 2</i>
Дисперсія кардіоінтервалів, с	0,009±0,001	0,007±0,002	0,014±0,001*	0,009±0,003*
Відносна організація кардіоінтервалів, ум.од.	0,41±0,02	0,53±0,02*	0,36±0,04	0,23±0,02*

Примітки: *) $p < 0,05$ порівняно до групи FB₁ відповідно, * – $p < 0,05$ порівняно до тесту 1 у середині групи

У методику визначення ФВ входять показники артеріального тиску (АТ): систолічного (АТС) та діастолічного (АТД), за яким можна давати загальну оцінку стану серцево-судинної системи обстежених [10]. Виявлено, що у групі FB₂ 26% обстежених операторів мали значення АТ в межах – 140/90 – 155/80 мм. рт. ст., що може вказувати на розвиток тенденції до стану пограничної гіпертензії, а в 16% – навіть свідчать про наявність стану гіпертонії (АТ перевищував 160/90 мм. рт. ст.). У групі контролю, показники АТ відповідали межах норми. Натомість, у операторів віком до 40 років із професійним стажем 10-15 років значення АТ не перевищували показники норми у 83% обстежених, а в групі контролю, підвищення значень АТ до межового рівня спостерігалось лише у 13%. Отже, між груповий аналіз показників АТ виявив у операторів тенденцію до залежності погранично підвищеного АТ від стажу та віку.

Результати порівняльного аналізу показників розумового навантаження у обстежених операторів двох вікових груп дозволяють констатувати достовірно гірші їх значення у групі FB₂. Слід зауважити, що у операторів вікової групи FB₁ виявлено достовірно кращі значення розумової працездатності (табл. 1). Крім того, у операторів групи FB₁ виявлено високий, а у операторів групи FB₂ – середній рівень розумової працездатності. Класифікація рівнів працездатності була нами отримана за допомогою процедури нормального розподілу значень розумової працездатності, отриманих раніше, всього 300 спостережень у людей віком 20-75 років [10].

Оцінку вегетативної регуляції ритму серця в умовах розумового навантаження проводили за показником дисперсії кардіоінтервалів (D) [1]. Згідно сучасних уявлень, показник D характеризує ступінь напруження системи регуляції ритму серця. Фізіологічна його характеристика відображає результат взаємодії центрального і автономного контурів регуляції за рахунок взаємовпливу симпатичного та парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи [1,9]. Змни показника D у бік

зниження свідчать про підвищення ступеню напруженої системи регуляції серцевого ритму, що було виявлено за достовірним зменшенням значень дисперсії у операторів групи FB₂, зокрема, при виконанні тесту 2 (таб. 1). Дослідження коливальної структури змін значень D при розумовому навантаженні свідчить про наявність перехідних процесів у регуляції серцевого ритму. У операторів групи FB₁ при виконанні тесту 1 спостерігається переважно стохастичний тип регуляції серцевого ритму, а у процесі розумової діяльності при виконанні тесту 2 відбувається перехід до детермінованого типу, внаслідок виникнення адаптаційних механізмів до розумового навантаження. У операторів групи FB₂ перша половина тестування характеризується детермінованим типом регуляції ритму серця, а у другій відбувається перехід до стохастичного типу регуляції, що характеризує початок регуляторного пошуку оптимального рівня функціонування системи регуляції ритму серця в умовах виникнення розумового стомлення. Цей факт узгоджується з динамікою такого показника адаптації до умов розумового навантаження, як кількість помилок (табл. 1). Тобто, у операторів групи FB₁ в процесі тестування спостерігається достовірне зменшення кількості помилок, а у операторів групи FB₂ їх кількість зростає. Крім того, аналіз показників відносної організації кардіоінтервалів (А) виявив достовірні їх зміни в операторів обох вікових груп в умовах розумового навантаження. Значення показників А збільшуються у групі FB₁, що свідчить про перехід системи кардіорегуляції у більш детермінований стан (табл. 1). Тобто, мобілізація у роботі призводить до підвищення детермінізму системи кардіорегуляції, гістограма масиву кардіоінтервалів при цьому стала звуженою. Однак, у операторів групи FB₂ спостерігається зворотна тенденція, значення показників А достовірно зменшуються у тесті 2 (табл. 1), що відобразалося у розширенні гістограми масиву кардіоциклів. Слід зауважити, що у обстежених операторів обох вікових груп не було виявлено ні-

яких достовірних змін середніх значень кардіоінтервалів в процесі розумового навантаження.

Висновки. У операторів віком після 40 років виявлено прискорений темп старіння. Збільшення середнього функціонального віку операторів після 40 років на фоні зниження працездатності відображає вплив специфіки їх діяльності. Міжгруповий аналіз показників артеріального тиску операторів виявив наявність тенденції до залежності погранично підвищеного АТ від стажу та віку. З'ясовано, що працездатність операторів пов'язана з коливальною структурою перехідних процесів регуляції серцевого ритму, а динаміка показників вегетативної регуляції ритму серця може бути критерієм як перших ознак стомлення, так і виникнення адаптаційних механізмів до напружених умов працездатності. Оцінка працездатності операторів за показником відносної організації кардіоінтервалів виявила відповідність функціонального стану "зосереджена праця" підвищенню детермінізму системи кардіорегуляції.

1. Баевский П.М., Кирилов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ сердечного ритма при стрессе. — М.: Наука, 1984. — 221 с.
2. Башкирева А.С. Влияние биологического возраста на профессиональную работоспособность. Сообщение II. Биологический возраст и физическая работоспособность // Физиология человека. — 2002. — том 28. — № 5. — С. 92–102.
3. Горго Ю.П. Информационная обработка кардиоинтервалов людини для оцінки функціональних робочих станів // Физиологический журнал. — 1998. — том 44. — № 3. — С. 246–247.
4. Горго Ю.П. Информационный подход к оценке изменений физиологических характеристик оператора при разных режимах его работы // Физиология человека. — 1986. — том 12. — № 2. — С. 253–257.
5. Поляков А.А., Коробейников Г.В. Возрастные особенности обучения и переобучения работе на компьютере // Физиология человека. — 1996. — том 22. — № 6. — С. 6–65.
6. Кальниш В.В., Навакатикиан А.О. Особенности умственной работоспособности у операторов тепловых электростанций // Медицина труда и промышленная экология. — 2000. — № 2. — С. 39–44.
7. Макаренко Н.В. Психофизиологические функции человека и операторский труд. — К.: Наукова думка, 1991. — 216 с.
8. Маслов Н.Б., Блоцкий И.А., Максименко В.Н. Нейрофизиологическая картина генеза утомления, хронического утомления и переутомления человека-оператора // Физиология человека. — 2003. — том 29. — № 5. — С. 125–133.
9. Навакатикиан А.О., Кальниш В.В. Изменение взаимосвязей физиологических функций ЦНС у операторов ЭВМ под влиянием профессионального стресса // Журнал АМН України. — 1998. — том 4. — № 2. — С. 355–362.
10. Решетюк А.Л., Поляков О.А., Коробейников Г.В. Визначення функціонального віку та темпів старіння людини // Методичні рекомендації. — К.: МОЗ України. — 1996. — 8 с.

Надійшла до редакції 21.03.07

УДК 577.112.083:616.33-002.44

К. Дворченко, канд. біол. наук, В. Ковальова, канд. біол. наук, О. Харченко, пров. інж.

ПЕРОКСИДАЦІЯ ЛІПІДІВ У ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВИРАЗКИ ШЛУНКА

При етаноловій та стресовій виразках шлунка в гепатоцитах щурів встановлено зростання вмісту дієнових кон'югатів та зниження вмісту малонового діальдегіду. Вміст шифових основ в клітинах печінки за умов обох моделей виразок не змінюється.

It is established, in hepatocytes of rats the contents of diene conjugates increase and level of the malonic dialdehyde decrease at ethanol and stress models of a stomach ulcer. The contents of Schiff bases are not changes at both models of a stomach ulcer.

Вступ. За світовою статистикою виразкова хвороба залишається надзвичайно розповсюдженим захворюванням в більшості європейських країн та США. Смертність від медіогастральних виразок залишається на більш високому рівні порівняно з їх дуоденальною локалізацією [9]. На сьогоднішній день із захворювання "виразкова хвороба" виділена група переважно гострих симптоматичних виразок (стресорних, медикаментозних, ендокринних та власно симптоматичних, які виникають під дією певного етіологічного фактору). Для виразкової хвороби характерний хронічний перебіг, при якому відбувається прогресування хвороби та втягнення в патологічний процес інших органів травної системи.

Однією з перших на патологічні зміни реагує печінка, оскільки це орган хімічного гомеостазу, де створюється єдиний обмінний та енергетичний пул для метаболізму білків, вуглеводів і жирів [5]. Печінка завдяки багатому набору ферментів виконує різноманітні функції: метаболічні, біосинтетичні, дезінтоксикаційні та екскреторні.

Перекисне окиснення мембранних фосfolіпідів відіграє важливу роль у підтриманні фізіологічної активності клітини, але при виникненні дисбалансу між процесами перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та роботою антиоксидантної системи утворюються надзвичайно токсичні гідроперекиси та нові перекисні радикали, які пошкоджують мембранні структури гепатоцитів [1]. У результаті відбуваються порушення білок-ліпідних та ліпід-ліпідних взаємодій, інгібування активності ферментів, зміна проникності мембран для іонів тощо.

Метою роботи було визначити вміст продуктів ПОЛ в гепатоцитах щурів за умов етанолової та стресової експериментальних моделей виразок шлунка.

Об'єкт та методи досліджень. У дослідах використовували щурів лінії Вістар вагою 180–230 г., яких утримували на стандартному раціоні віварію. Модель етанолової виразки шлунка створювали загальноприйнятим методом (щурам перорально вводили 1 мл 80% етилового спирту) [8]. Для створення стресової виразки шлунка щурів, використовували модифіковану методику "іммобілізаційного стресу" [4].

Гепатоцити з печінки щурів отримували неферментативним шляхом з використанням розчину Хенкса [7]. Отримані гепатоцити респендували у розчині Хенкса до концентрації $2-3 \times 10^7$ кл/мл.

Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук та шифових основ. Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом, шифових основ — флюориметричним методом [6]. Вміст ТБК-активних сполук визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [2].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. В результаті проведених експериментів було встановлено, що за умов обох моделей виразок шлунка щурів (етанолової і стресової) зростає вміст первинних продуктів ПОЛ — дієнових кон'югатів. Так, при дії етилового спирту їх вміст збільшується на 186%, а при стресі — на 342% порівняно з контролем (табл. 1). Вміст кінцевих продуктів ПОЛ — шифових основ за умов обох моделей експериментальних виразок залишається у межах контрольних значень.

Таблиця 1. Вміст продуктів пероксидації ліпідів в гепатоцитах щурів за умов експериментальної виразки шлунка ($M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин	Дієнові кон'югати нмоль/мг білка	Шифові основи ум.од./мг білка
контроль	16,4 $\pm$ 1,3	3,7 $\pm$ 0,2
етанолова модель	46,9 $\pm$ 4,1*	4,0 $\pm$ 0,3
стресова модель	72,7 $\pm$ 6,8*	3,7 $\pm$ 0,3

*- $p < 0,05$ різниці достовірні по відношенню до контролю

Зростання вмісту дієнових кон'югатів в гепатоцитах щурів може призводити до порушення в клітині структури білків, ферментів, нуклеїнових кислот та ліпопротеїдів, оскільки ці токсичні метаболіти, що утворюються в процесі ПОЛ, володіють детергентним ефектом [3].

Таблиця 2. Вміст МДА в гепатоцитах щурів за умов експериментальної виразки шлунка ($M \pm m$; $n=10$)

Групи тварин	Вміст МДА нмоль/мг білка	Спонтанне накоп. МДА нмоль/мг білка	Fe ²⁺ +аск. накоп. МДА нмоль/мг білка	АДФ+НАДН ⁺ накоп. МДА нмоль/мг білка
контроль	77,9 $\pm$ 6,8	61,2 $\pm$ 5,4	49,1 $\pm$ 4,3	46,7 $\pm$ 3,8
етанолова модель	23,9 $\pm$ 1,7*	23,5 $\pm$ 1,5*	19,3 $\pm$ 1,7*	15,3 $\pm$ 1,3*
стресова модель	55,6 $\pm$ 4,2*	37,1 $\pm$ 3,1*	16,4 $\pm$ 1,2*	27,6 $\pm$ 2,4*

*- $p < 0,05$ різниці достовірні по відношенню до контролю

Активізація процесу ПОЛ відбувається за вільнорадикальним ланцюговим механізмом, і в клітинах печінки передбачений цілий ряд захисних систем, які попереджують його розвиток. Головну роль в регуляції ПОЛ на стадії ініціації відіграють такі ферменти антиоксидантного захисту, як супероксиддисмутаза та каталаза, які при аддитивній дії нейтралізують супероксид та перекис водню. Субстратом глутатіонпероксидази, невід'ємним компонентом реакцій якої є відновлений глутатіон, є первинні продукти ПОЛ – гідроперекиси ненасичених жирних кислот. Іншою можливістю антиоксидантної системи при розвитку процесів ПОЛ в клітині є неферментативні системи захисту, такі як α -токоферол, вітамін С та ін. Якщо надійність всіх компонентів антиоксидантної системи гепатоцитів знаходиться на високому рівні, розвиток процесів ПОЛ буде сильно обмеженим, що і спостерігається при визначенні ТБК-активних продуктів в клітинах печінки щурів при експериментальній моделі виразки шлунка.

Таким чином, за умов експериментальної виразки шлунка, як при дії стресового фактору, так і етилового спирту, змін зазнають і клітини печінки.

При дослідженні вмісту МДА – вторинного продукту пероксидації ліпідів у клітинах печінки показано статистично значиме зменшення цього показника за умов дії як етанолу, так і стресу (табл. 2).

Так, при етаноловій моделі виразки шлунка знижується вміст МДА на 69%, при спонтанному накопиченні МДА – на 62%, неферментативному накопиченні МДА – на 61% і при ферментативному накопиченні МДА – на 67% відносно контрольних тварин. При стресовій моделі виразки шлунка знижується вміст МДА на 29%, при спонтанному накопиченні МДА – на 39%, неферментативному накопиченні МДА – на 67% та ферментативному накопиченні МДА – на 41% відносно контролю.

Висновки. Отримані результати свідчать про порушення окисно-антиоксидантного балансу в гепатоцитах щурів при етаноловій та стресовій експериментальних моделях виразки шлунка, що проявляється інтенсифікацією утворення первинних продуктів пероксидації ліпідів та зниженням вмісту ТБК-активних продуктів.

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1992. – 252 с.
2. Гаврилов В.П., Гаврилова А.Р., Майорова И.Г. Методика определения малонового диальдегида в сыворотке крови // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.
3. Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства / Гулак И.В., Дудченко А.М., Зайцев В.В. и др. – М.: Наука, 1985. – 270 с.
4. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс. Библ. указ. ВИНТИ. Деп. рукописи. – 1979. – № 12. – Б/о. 131 с.
5. Мансуров Х.Х., Мироджов Г.К. Этанол и гастриты // Гастроэнтерология. Под ред. Х.Х. Мансурова. – Душанбе: Донши, 1985. – Вып. 6. – С. 57–74.
6. Орехович В.И. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 371 с.
7. Петренко А.Ю., Сукач А.Н., Росляков А.Д. Выделение гепатоцитов крыс неферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активности // Биохимия. – 1991. – Т. 56. – Вып. 9. – С. 1647–1650.
8. Mosnier P., Rayssiguier Y., Motta C. et al. Effect of ethanol on rat gastric surfactant: a fluorescence polarization study // Gastroenterology. – 1993. – Vol. 104. – P. 179–184.
9. Yang Y.X., Lewis J.D. Prevention and treatment of stress ulcers in critically ill patients // Semin. Gastrointest. Dis. – 2003. – Vol. 14(1). – P. 11–19.

Надійшла до редколегії 10.01.07

ЕКСПРЕСІЯ БІЛКІВ ТЕПЛООВОГО ШОКУ HSP70 І HSP90 У ПАРІЕТАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

Досліджено рівні експресії білків Hsp70 і Hsp90 в паріетальних клітинах шлунка щурів у нормі та при розвитку експериментального атрофічного гастриту. Виявлено підвищення рівня експресії Hsp70 і Hsp90 на ранній стадії експериментальної моделі.

Hsp70 and Hsp90 expression levels in rat parietal cells were investigated in normal animals and during development of chronic atrophic gastritis model. Increasing in Hsp70 and Hsp90 expression levels in early stages of experimental model development was detected.

Вступ. Білки теплового шоку Hsp70 і Hsp90 належать до молекулярних шаперонів клітини і, відповідно, відіграють ключову роль у фолдингу ряду білків. Так, Hsp70 зв'язується з новосинтезованими поліпептидами під час трансляції на рибосомах. Зв'язування Hsp70 з поліпептидними субстратами відбувається завдяки неспецифічним гідрофобним взаємодіям, таким чином, молекули Hsp70 екранують потенційно гідрофобні кластери в молекулах білків, які синтезуються. В нативних молекулах білків більшість гідрофобних кластерів перебувають в середині глобули, що є одним з додаткових факторів стабілізації третинного і четвертинного рівнів організації білка. За умов стресу нативна конформація білків в клітині може порушуватись. Внаслідок цього гідрофобні кластери молекул можуть з'являтися на поверхні білків. Це є однією з причин утворення нерозчинних білкових агрегатів в клітинах про- і еукаріот за умов теплового, кислотного чи іншого типу стресів. Показано, що утворення нерозчинних білкових агрегатів (тобто, порушення процесів фолдингу і рефолдингу) в клітинах може бути причиною і супроводжує розвиток ряду захворювань людини [1]. Найкраще досліджено накопичення в нейронах так званих тілець включення для ряду нейродегенеративних захворювань. З іншого боку, роль молекулярних шаперонів Hsp70 і, особливо, Hsp90 у розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ), згідно літературних даних, вивчена недостатньо. Більшість досліджень в цьому напрямку були проведені з використанням культур різних клітин слизової оболонки шлунка. (зокрема, культур клітин слизової оболонки шлунка морських свинок) [1, 2, 3]. Було показано, що у відповідь на дію таких стресових факторів, як підвищена температура (43°C/ 10-30 хв), етиловий спирт (до 0,5 М/ 30 хв), перексид водню (до 0,5 мМ/ 30 хв) та інших, рівень експресії таких білків теплового шоку, як Hsp110, Hsp90, Hsp73, Hsp72 і Hsp60 значно зростає. В умовах *in vivo* для вивчення ролі білків теплового шоку в захворюваннях різноманітних відділів ШКТ, використовуються експериментальні моделі гастриту, виразки шлунка і коліту щурів [2, 3]. При цьому слід зазначити, що при дослідженні експресії білків теплового шоку працюють переважно з загальними лізатами клітин слизової оболонки шлунка чи певних відділів кишківника, тобто, цілісного уявлення про динаміку і рівні експресії даних білків в окремих типах клітин за умов розвитку експериментального гастриту, виразки чи коліту, загалом немає. В наших дослідженнях ми використали модель хронічного атрофічного гастриту (ХАГ) щурів. Метою роботи було дослідити експресію білків Hsp70 і Hsp90 в паріетальних клітинах шлунку на різних етапах розвитку ХАГ.

Матеріали і методи досліджень. Препарат Hsp90, очищеного з мозку бика, люб'язно надано проф.

Я. Кузницьким (Інтернаціональний інститут молекулярної і клітинної біології, Варшава, Польща). Поліклональні антитіла проти DnaK (прокаріотичний аналог еукаріотичного Hsp70) люб'язно надано проф. Н. Пфаннером (Університет м. Фрайбурга, Германия).

У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції. У досліді використовували білих лабораторних нелінійних щурів-самців з початковою масою 180-220 г. Групі тварин, протягом 6 тижнів кожного дня вводили 2% саліцилат натрію (2 мл інтрагастрально), а питну воду заміняли на 20 мМ деоксихолат натрію. Піддослідні тварини були розділені на 7 груп: 1 – контрольна, яка утримувалась на стандартному раціоні виварію; 2–7 – тварини з відповідними термінами експериментальної моделі. Щурів, яких відсаджували для голодування протягом 18 год, брали на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й і 6-й тиждень проведення експериментальної моделі [4].

Визначення концентрації білка за методом Бредфорд проводили згідно з методикою описаною раніше з деякими модифікаціями [5]. Реактив для визначення концентрації білка готували наступним чином: 100 мг барвника кумасі G-250 розчиняли в 50 мл 96% етанолу, додавали 100 мл 85% фосфорної кислоти (вага/об'єм) та об'єм отриманого розчину доводили до 1 літра (кінцева концентрація кумасі G-250 складала 0,01%, етанолу – 4,7%, фосфорної кислоти – 8,5%). Калібрувальну криву будували, використовуючи розчин альбуміну сироватки бика (БСА) в якості стандарту. Будували графік залежності поглинання (при довжині хвилі 590 нм) від концентрації білкового розчину. Концентрацію білка в лізатах паріетальних клітин визначали за калібрувальною кривою. Проби для визначення концентрації білка готували наступним чином: відповідний об'єм розчину БСА, або лізату паріетальних клітин додавали до 2 мл реактиву Бредфорд та ретельно перемішували. Через 10 хвилин визначали поглинання суміші при довжині хвилі 590 нм проти проби, яка містила 2 мл реактиву Бредфорд і відповідний об'єм буферу, в якому здійснювали лізис паріетальних клітин. Визначення оптичної густини проб при довжині хвилі 590 нм проводили на спектрофотометрі Spekol 11.

Поліклональні анти-Hsp90 антитіла одержано, як описано в [6].

Електрофорез отриманих лізатів клітин проводили у градієнті концентрації ПААГ (5-12%) в денатуруючих умовах по Laemmli [7]. Розділюючий гель містив 375 мМ тріс HCl (pH 8,8), 0,1% додецил сульфату натрію, 12% суміші акриламід/метилен-біс-акриламід (в пропорції 30 : 0,8). Концентруючий гель містив 127 мМ тріс HCl (pH 6,8), 0,1% додецил сульфату натрію, 5% суміші акриламід/метилен-біс-акриламід. Гелі полімеризували додаванням 1 мкл/мл TEMED і 10 мкл/мл 10% розчину

персульфату амонію. До досліджуваних лізатів додавали 1/4 об'єму буферу для зразків (500 мМ тріс НСІ рН 6,8, 5% 2-меркаптоетанолу, 0,1% бромфенолового синього). Зразки прогрівали 5 хвилин при 96°C і наносили на концентруючий гель. Форез проводили в тріс-гліциновому буфері (рН 9,2-9,5) при напрузі 10-20 В/см [7].

Імуноблотинг отриманих проб проводили за описаним методом [8]. Після електрофорезу проб в денатуруючій умові гель відмивали в буфері PBS та проводили пасивний перенос білків на нітроцелюлозну мембрану на протязі 3-4 діб. Вільні сайти адсорбції блокували 5% знежиреним молоком в буфері PBS-T. Після цього мембрану інкубували 1 год з поліклональними антитілами проти Hsp70 (розведення 1 : 1000) і Hsp90 (1 : 30). Після цього мембрану відмивали і інкубували з антитілами, кон'югованими з пероксидазою. Після відмивки мембрану витримували 2 хв в ECL реагенті (1,25 мМ люмінол, 0,45 мМ кумарова кислота, 0,015% H₂O₂ в 100 мМ тріс-НСІ буфері (рН 8,5) і 1% сульфоксид) і експонували на рентгенівську плівку.

Результати та їх обговорення. На рис.1 представлені результати імуноблотингу лізатів паріетальних клітин, отриманих на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й і 6-й тижні розвитку ХАГ у щурів. Експресія білка Hsp70 підвищувалась починаючи з 1-шого тижня розвитку експериментальної хвороби (рис. 1). Рівень експресії білка Hsp90 в порівнянні з контролем незначно зростає на 1-ший і 5-тий і знижувався на 2-гий, 3-тій і 6-тий тижні розвитку ХАГ (рис. 1). Відомо, що в клітинах еукаріот експресуються декілька білків родини Hsp70. Основними з них є конститутивний білок Hsc70 з молекулярною масою 73 кДа і індукцйний Hsp70 з молекулярною масою 72 кДа [9, 1]. В наших дослідженнях нами було використано поліклональні антитіла проти білка теплового шоку

DnaK – прокаріотичного аналога еукаріотичного шаперону Hsp70. Коректність досліджень змін експресії Hsp70 в еукаріотичних тканинах за допомогою анти-DnaK антитіл визначена нами в попередніх дослідженнях імунологічної крос-реактивності DnaK та Hsp70 [6]. За даних умов проведення імуноблотингу нам не вдалося диференціювати експресію окремих білків родини Hsp70. Відомо, що шаперони відіграють важливу роль в захисті і підтриманні гомеостазу слизової оболонки ШКТ. Так, Алдерманом, Йін та колегами [10] було показано, що збільшення експресії індукцйного білка Hsp70 є одним з механізмів захисту клітин слизової оболонки шлунка від пошкоджень, спричинених введенням розчину солі саліцилової кислоти. Солі саліцилової кислоти можуть індукувати процеси апоптозу в клітинах шлунка. Попередня індукція експресії білка Hsp70 істотно знижувала відсоток клітин слизової оболонки шлунка, які загинули шляхом апоптозу [10]. Хіракавою та колегами було продемонстровано, що збільшення експресії як конститутивного Hsp73, так і індукцйного Hsp72, вело до зниження кількості виразок слизової оболонки шлунка, утворених в умовах стресу спричиненого зануренням щурів під воду [2, 10]. З іншого боку, Тсукімі з колегами виявили, що Hsp72 і Hsp47 відіграють важливу роль в захисті клітин шлунка в умовах розвитку виразки, тоді як білок Hsp73 необхідний для забезпечення процесу загоєння виразки слизової оболонки [3]. Відомо, що однією з основних ознак розвитку ХАГ є порушення балансу між процесами проліферації, диференціації, апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки [11]. Отже, отримані нами результати можуть вказувати на те, що білки Hsp70 відіграють роль у захисті паріетальних клітин шлунка в умовах розвитку ХАГ.

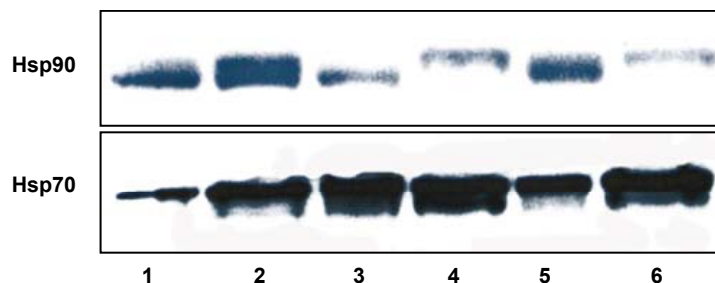


Рис. 1. Експресія білків Hsp70 і Hsp90 в паріетальних клітинах щурів на 1-ший (2), 3-тій (3), 4-тій (4), 5-тій (5) і 6-тій (6) тижні розвитку експериментальної моделі ХАГ, визначена методом імуноблотингу (Western-blot analysis). 1 – контрольний зразок (здорові тварини)

Нами було проведено гістологічні дослідження слизової оболонки шлунка на різних стадіях розвитку ХАГ. На 2-3 тижні спостерігалось потовщення слизової оболонки, а на 5-6, навпаки, достовірне зменшення товщини в порівнянні з контролем. На 4-5 тижні спостерігалось зменшення кількості залоз (атрофія) (дані не представлено). З рис. 1 видно, що збільшення рівня експресії Hsp70 і Hsp90 спостерігалось вже на перший тиждень від початку введення деоксихолату і саліцилату натрію. Таким чином, збільшення експресії даних білків в паріетальних клітинах передують появі морфологічних ознак, характерних для ХАГ. Це може вказувати на те, що дані шаперони відіграють роль в захисті паріетальних клітин шлунка вже на початкових етапах розвитку гастриту у щурів.

Шаперон Hsp90 також відіграє важливу роль у захисті слизової оболонки ШКТ від дії різноманітних пошко-

джуючих факторів. Так, відповідно до літературних даних, підвищення експресії Hsp90 є одним з факторів захисту слизової оболонки шлунка і тонкого кишківника від дії етанолу і перексиду водню [2, 10]. Отриманих нами результатів (рис.1) не достатньо щоб зрозуміти роль Hsp90 у захисті паріетальних клітин в умовах розвитку ХАГ. Проте можливо, що Hsp90, як і Hsp70, відіграє важливу роль у захисті паріетальних клітин на початкових (1-ший тиждень), а також, на кінцевих (5-тий тиждень) етапах розвитку ХАГ (рис. 1).

Висновки. Нами було показано, що на початкових етапах (1-ший тиждень) розвитку ХАГ рівень експресії білків Hsp70 і Hsp90 в паріетальних клітинах збільшується у порівнянні з контролем. На 3, 4, 5 та 6-тий тижні розвитку ХАГ експресія Hsp70 залишається високою, натомість, рівень експресії білка Hsp90 змінюється. Отримані результати дозволяють припустити, що білки

Hsp70 і Hsp90 беруть участь у захисті парієтальних клітин шлунка на перших етапах розвитку хронічного атрофічного гастриту, індукованого введенням деоксихолату і саліцилату натрію.

1. Fink A.L. Chaperone-mediated protein folding // *Phys.Rev.* – 1999. – Vol. 79, № 2. – P. 425–449. 2. Rokutan K. Gastric mucosal protection and cell proliferation. Role of heat shock proteins in gastric mucosal protection // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2000. – Vol. 15. – P. 12–19. 3. Tsukimi Y., Nakai H., Itoh S., Amage K., Okabe S. Involvement of heat shock proteins in the healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 52, № 3. – P. 391–406. 4. Wang Liang-jing, Chen Shu-jie, Chen Zhe, Cai Jian-ting, Si Jian-min. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats // *J Zhejiang Univ Science B.* – 2006. – Vol. 8, № 7. – P. 634–640. 5. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for quantitation of utilizing the principle of protein binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 86. – P. 193–200. 6. Клуцян Л.Н., Кия-

мова Р.Г., Гришкова В.С., Терентьев А.Г., Филоненко В.В., Сидорчик Л.Л. Получение рекомбинантного шаперона GroEL и его иммунологическая кросс-реактивность с Hsp60 // *Биоп. Клетка.* – 2006. – Т. 2, № 22. – С. 117–120. 7. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – 227, № 52. – P. 680–685. 8. Avramis S., Termynck T. Monoclonal IgG and autoantibodies obtained after polyclonal activation, show reactivities similar to those of polyclonal natural autoantibodies // *Mol. Immunol.* – 1993. – Vol. 30. – P. 119–127. 9. Oksala N.K.J., Oksala A., Paavonen T., Alhava E., Paimela H. Heat shock preconditioning modulates proliferation and apoptosis after superficial injury in isolated guinea pig gastric mucosa via an eicosanoid and protein synthesis-dependent mechanism // *APMIS.* – 2003. – Vol. 111. – P. 497–506. 10. Tsukimi Y., Okabe S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing // *Biol. Pharm. Bull.* – 2001. – Vol. 24, № 1. – P. 1–9. 11. Fox J.G., Wang T.C. Inflammation, atrophy, and gastric cancer // *J. Clin. Inv.* – 2007. – Vol. 117, № 1. – P. 60–69.

Надійшла до редколегії 12.11.06

УДК 616.24-002.5:612.017.1-07

Л. Сківка, канд. біол. наук, Є. Шпак, асп.,
Ю. Швець, канд. біол. наук, В. Позур, д-р біол. наук

ДИНАМІКА РОЗВИТКУ ГУМОРАЛЬНОЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ КРОЛІВ РІЗНИХ ПОРІД ПРИ КОМБІНОВАНІЙ СХЕМІ ІМУНІЗАЦІЇ МІКОБАКТЕРІЯМИ

Досліджено динаміку гуморальної імунної відповіді у кролів порід Білий та Сірий Велетень при внутрішньовенному у поєднанні з інтраназальним введенням BCG. Сироватки крові кроля породи Білий Велетень продемонстрували більш високу і стабільну реакцію проти поверхневих антигенів мікобактерій у титрах 1:64, 1:32, 1:16 та 1:8.

Dynamics of humoral immune response in rabbits of White and Grey Giant Strains was investigated related to intravenous+intranasal schedule of immunization. Positive serum reactivity of rabbits of White Giant Strain in titers 1:64, 1:32, 1:16, 1:8 was demonstrated.

Вступ. Дані світової літератури свідчать про те, що смертність від інфекції викликані мікобактеріями туберкульозу в популяції людей продовжує зростати [4, 6, 9]. Це відбувається не лише за рахунок активної передачі збудника, особливо до імунокомпрометованих осіб, але і через виникнення великої кількості мультирезистентних до антибіотиків штамів *Mycobacterium tuberculosis* [8, 10]. Загальноприйнятим в клінічній практиці методом профілактики туберкульозу є імунізація живими послабленими клітинами вакцинного штаму *Mycobacterium bovis BCG* [1]. В літературі є відомості про те, що, що асоційовані з CD1b антигени такі як, ліпідоманан та міколові кислоти, мають подібні структури у мікобактерій штаму BCG і *M. tuberculosis* [4]. Тому введення BCG призводить до утворення рестриктованих за асоційованими з CD1b антигенами Т-клітин, які специфічно реагують і на подібні антигени *M. tuberculosis*. Рядом дослідників [1] показано, що вакцинація новонароджених BCG сприяє розвитку у них протективних клітинних імунних механізмів, спрямованих проти збудника туберкульозу. Однак, захворювання може виникнути і у імунізованих осіб. Аналіз літературних даних [1] свідчить про те, що вакцинація населення зменшує ризик розвитку захворювання лише приблизно на 50%. В зв'язку з цим питання про розробку методів профілактики туберкульозу залишається однією з актуальних проблем охорони здоров'я у всьому світі.

Важливу роль у протиінфекційному захисті макроорганізму відіграє гуморальна ланка імунітету. Особливо значущим є її внесок у нейтралізацію розчинних бактеріальних субстанцій (токсинів, компонентів зруйнованих бактеріальних клітин) [2, 7]. Крім того, реакції антитілозалежної клітинної цитотоксичності забезпечують елімінацію мікроорганізмів, в тому числі бактерій-внутрішньоклітинних паразитів таких, як бактерії роду *Mycobacterium* [6]. Поглиблене вивчення особливостей формування гуморальної імунної відповіді до антигенів мікобактерій і розробка оновлених підходів імунізації

чутливих осіб може скласти підґрунтя для створення нових ефективних засобів профілактики туберкульозу.

Метою даної роботи була порівняльна характеристика динаміки розвитку гуморальної імунної відповіді кролів різних порід до поверхневих антигенів BCG при комбінованому введенні імуногену.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом дослідження були аутбредні кролі порід Сірий та Білий Велетні (самці). Вік тварин складав 3–4 місяці, середня вага – 3 кг.

Для імунізації дослідних кролів використовували вакцинний штам *Mycobacterium bovis (BCG)* (Сумська біофабрика, Україна).

Перед культивуванням бактерії витримували в стимуляторі росту (Київ ЗАТ "Ганза") для прискореного виявлення мікобактерій протягом 24 годин при температурі 37°C. Бактерії культивували на середовищі ВКГ (Київ ЗАТ "Ганза") при 37°C протягом 48 годин.

Для імунізації тварин використовували мікобактерії паличкоподібної форми [1]. Для цього готували суспензію клітин шляхом змиву їх фізіологічним розчином з поверхні чашки Петрі. Титр бактеріальної суспензії для імунізації становив 10¹⁰ КУО/мл.

В роботі було використано комбіновану схему імунізації, яка поєднувала внутрішньовенне та інтраназальне введення імуногену: бактеріальну суспензію приготували описаним вище способом, вводили по 0,5 мл внутрішньовенно та інтраназально. Після цього проводили три реімунізації з інтервалом 2–3 доби. Через 35 днів після останньої реімунізації проводили серію бустерних ін'єкцій: внутрішньовенно вводили імуноген тричі з інтервалом в 1 добу. Після останньої реімунізації проводили перший забір крові для попереднього тестування специфічності антисироватки. В наступні 35 днів тварин не імунізували – кров для тестування протягом цього періоду брали двічі: через 7 та 14 днів. Останній забір крові проводили через 7 днів після серії бустерних ін'єкцій.

Схема бустерних ін'єкцій продиктована тим, що такий протокол підсилюючих імунізацій вважається найбільш ефективним для стимуляції антитілопродукції [5].

© Сківка Л., Шпак Є., Швець Ю., Позур В., 2007

Зразки крові відбирали у стерильні пробірки і термостатували при 37⁰С протягом 30 хв; Після формування згустку, зразки крові центрифугували 15 хв при 1500 об/хв. Відшаровану сироватку обережно відбирали піпеткою, розливали в пластикові пробірки по 1 мл. і зберігали при -5⁰С. Для проведення досліджень зразки розморожували і використовували протягом 7 діб.

Серологічну активність отриманих сироваток досліджували методом твердофазного гетерогенного імуноферментного аналізу [3].

Імуносорбентом слугували імібілізовані на поверхні пластикових 96-лункових плоскодонних планшетів клітини BCG.

В якості контролю використовували сироватки інтактних кролів порід Сірий і Білий Велетень.

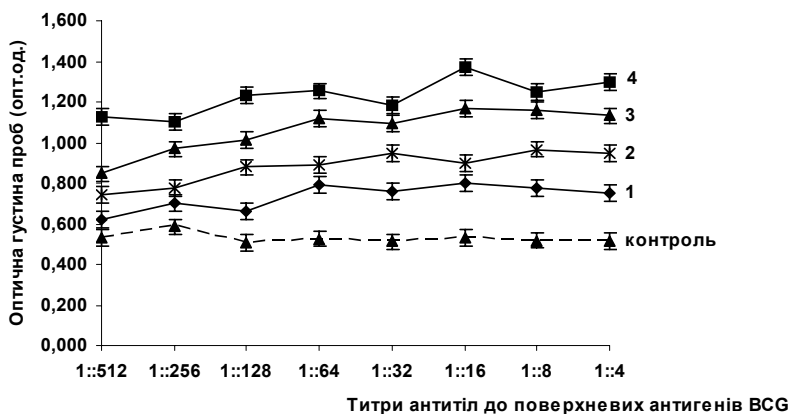
Статистичну обробку результатів проводили в програмі Microsoft Excel 2000 з використанням t-критерія Стьюдента.

Результати та їх обговорення. З метою вивчення динаміки утворення антитіл нами вивчалась реактивність сироваток кролів різних порід в різні терміни після первинної і бустерних імунізацій.

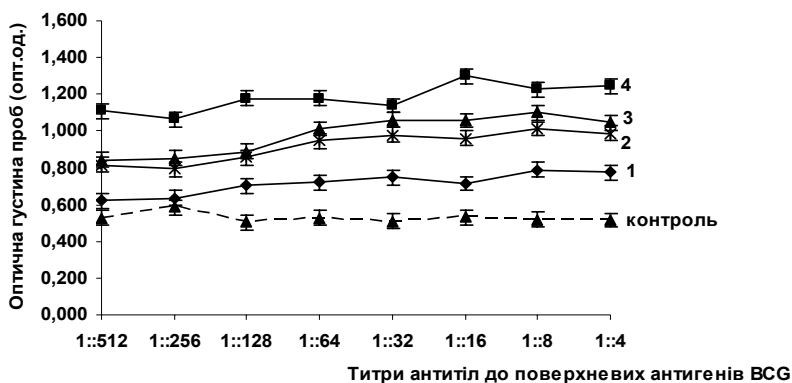
Зважаючи на те, що порівняльна оцінка реактивності сироваток інтактних кролів порід Сірий та Білий Велетень показала високий ступінь їх подібності, на рисунках контрольні криві побудовані виходячи з узагальнених значень для кролів обох порід.

Інтраназальний шлях введення антигену імітує природні шляхи потрапляння збудника в організм. При інтраназальному введенні клітини BCG поглинаються антигенпрезентуючими клітинами (АПК), які містяться в лімфоїдних тканинах, що супроводжують слизові оболонки респіраторного тракту. Такий шлях введення антигену найкраще сприяє як системному антитілоутворенню, так і активації антитілогенезу в межах слизових оболонок, в першу чергу, респіраторного тракту [6]. Крім того, інтраназальне введення антигену спричиняє хомінг активованих плазматичних клітин в легенях [2], що особливо важливо для формування протективного антитуберкульозного імунітету.

На рис.1 зображена реактивність сироваток кроля породи Сірий Велетень імунізованого внутрішньовенно+інтраназально в різні терміни часу.



А



Б

Рис. 1. Динаміка антитілоутворення у кролів породи Сірий Велетень (А) та Білий Велетень (Б) до поверхневих антигенів BCG, імунізованих внутрішньовенно+інтраназально:
1 – забір крові проводили безпосередньо після останньої третьої реімунізації,
2 – через 7 діб після останньої реімунізації, 3 – через 14 діб після останньої реімунізації,
4 – через 7 діб після завершення протоколу імунізації

З наведеного графічного матеріалу видно, що позитивна реактивність сироваток крові кролів породи Сірий Велетень спостерігається вже зразу після останньої реімунізації тварин, поступово зростає через 7 діб, що, ймовірно, свідчить про максимально сформовані ефективні гуморальні механізми видалення антигену в цей

термін часу. Через 14 діб після останньої реімунізації реактивність сироваток незначно зростає порівняно з попереднім терміном досліджень. Виразне зростання рівня позитивної реактивності сироваток спостерігається через 7 діб після завершення протоколу імунізації, в титрах 1:128; 1:64; 1:32 та 1:16. При максимальних розве-

деннях сироваток крові кролів породи Сірий Велетень в титрах 1:256 та 1:512 позитивна реактивність спадає у всіх зразках, які були отримані в різні терміни часу.

Дослідження динаміки антитілоутворення у кролів породи Білий Велетень до поверхневих антигенів BCG, імунізованих внутрішньовенно+інтраназально показало, що, як і у випадку з кролями породи Сірий Велетень, позитивна реактивність сироваток крові спостерігається вже одразу після останньої реімунізації тварин і поступово зростає.

Реактивність сироваток крові отриманих через 14 днів після останньої реімунізації у кролів породи Білий Велетень, на відміну від такої у кролів породи Сірий Велетень, мала вищі показники. У всіх зразках сироваток кролів породи Білий Велетень спостерігалась стабільна реактивність у титрах 1:64; 1:32 та 1:16, 1:8.

Висновки. Таким чином, в динаміці режиму імунізації, що передбачає комбіноване (внутрішньовенно+інтраназальне) введення імуногену, сироватки крові кроля породи Білий Велетень продемонстрували більш високу і стабільну реакцію проти поверхневих антигенів мікобак-

терій BCG. Ймовірно, існують, генетично детерміновані відмінності в характері імунної відповіді на поверхневі антигени мікобактерій у кролів різних порід.

1. Власенко В.В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности. – Винница: "Гипанис", 1999 – 244 с. 2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. – М.: "МИА", 2001. – С. 436–441. 3. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. – М.: "Высшая школа", 1991. – 288 с. 4. Журило О.А., Турченко Л.В., Клименко М.Т. Ситуация с мультирезистентного та полірезистентного туберкулезу в Києві // Укр. пульм. монол. журн. – 1999. – № 3. – С. 36–39. 5. Кэпті Д. Антитела. Методы. – М.: "Мир", 1991. – 285 с. 6. Покровский В.И., Гордиенко С.П., Литвинов В.И. Иммунология инфекционного процесса. – М., 1993. – 340 с. 7. Ройт А., Бростовф Дж., Мейл Д. Иммунология. – М.: Мир, 2000. 8. Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Кобилянська А.В. Хіміо-резистентний туберкульоз. – К.: Здоров'я, 2003. – 136 с. 9. Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Матусевич В.Г., Антоненко Л.Ф. Епідеміологія туберкульозу у світі, сучасні підходи до організації протитуберкульозних заходів // Укр. пульм. монол. журн. – 2003. – № 4. – С. 5–10. 10. Чопорова О.І. Феномен медикаментозної резистентності МБТ на сучасному етапі // Вісник Укр. стоматологічної академії. – 2004. – т. 4. – №2. – С. 97–101.

Надійшла до редколегії 28.02.07

УДК 616.89-008.441.13-036

О. Харченко, пров. інж., Л. Гавриш, канд. біол. наук,
В. Чайка, канд. біол. наук,

АКТИВНІСТЬ АЛКОГОЛЬДЕГІДРОГЕНАЗИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

При експериментальній хронічній алкогольній інтоксикації встановлено зростання активності алкогольдегідрогенази в гомогенаті клітин печінки щурів на 4 добу з подальшим зниженням її активності до контрольного значення на 7-16 добу. На 21 добу активність досліджуваного ферменту була у 10 разів нижче відносно контролю.

It was established alcohol dehydrogenase activity increasing in rat liver cells homogenate under the conditions of chronic alcohol intoxication on the 4 day and its further decreasing to control level on the 7-16 days. On the 21 day the activity of investigated enzyme was 10 times lower then control level.

Сьогодні усе більшого розповсюдження серед населення України набуває алкоголізм. Згідно офіційної статистики захворюваність ним в Україні подвоїлась за останні роки і число хворих сягнуло 700 тис. чоловік [3]. У основі патогенезу алкоголізму лежать глибокі зміни метаболізму, що призводить до порушень біогенезу, структури та функції клітин різних органів та систем людини.

Тому все більше значення в клінічних та експериментальних дослідженнях надається вивченню системи метаболізму етанолу в організмі людини і тварин з метою створення нових препаратів, які використовуються для профілактики і лікування алкогольної залежності.

Ключову позицію в метаболізмі етанолу займає алкогольдегідрогеназа (АДГ), яка є задіяною в первинному механізмі детоксикації екзогенних спиртів. Алкогольдегідрогеназна система є головним метаболічним шляхом обміну етанолу, а також інших біологічно важливих алкоголів і альдегідів (ретинол, 3 β -гідроксистероїди, ω -гідрокси жирні кислоти і 4-гідроксиноненал). Показано існування інших ферментів, що забезпечують окислення алкоголю, проте, їх внесок у утилізацію етанолу є відносно невеликим. Оскільки біля 10% алкогольдегідрогенази міститься в печінці, перша стадія окислення алкоголю протікає, головним чином, у цьому органі [1].

Тому метою даної роботи було дослідження активності алкогольдегідрогенази печінки щурів при експериментальній алкогольній інтоксикації.

Об'єкти й методи дослідження. У роботі дотримувались міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використання тварин згідно Європейської конвенції.

Дослідження проводили на щурах (самцях) лінії Віс-тар масою 180-200 г, що утримувались на стандартно-

му раціоні віварію з вільним доступом до води. Хронічна алкогольна інтоксикація викликала за методикою М.Х. Халілова та Ш.А. Закірходжаєва [5]. 40° етиловий спирт вводився перорально з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини раз на добу.

Гомогенат печінки отримували за методикою [4] на 4, 6, 11, 16 та 21 добу після початку експерименту. Активність алкогольдегідрогенази визначали за кількістю утвореного НАДН₂, яку оцінювали спектрофотометрично [6].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента при P<0,05

Результати досліджень та їх обговорення. Вплив алкоголю на обмін речовин в різних органах та системах досить детально вивчений і описаний в науковій літературі. Відомо, що етанол, який потрапив в організм, окислюється за рахунок ферменту алкогольдегідрогенази (АДГ) до оцтового альдегіду. Алкогольдегідрогеназа (алкоголь: НАД оксидоредуктаза) каталізує окислення спиртів і ацетальдей до альдегідів і кетонів. Сьогодні виявлено 6 класів АДГ [1]. З окислення етанолу пов'язані переважно АДГ класів I і IV. Це визначило особливу увагу до цих ензимів, зокрема тому, що особливо значний вміст в організмі, зокрема в печінці, становить АДГ I.

У результаті досліджень нами було встановлено, що при хронічній алкогольній інтоксикації активність алкогольдегідрогенази печінки щурів на 4 добу зростала у 3,6 рази. У подальшому активність ферменту знижувалась і на 16 добу досягала контрольних значень, а на 21 добу була у 10 разів нижче контролю (рис. 1).

Показане нами початкове зростання активності досліджуваного ферменту, можливо, відбувається внаслідок зростання вмісту субстрату – ендogenous етанолу.

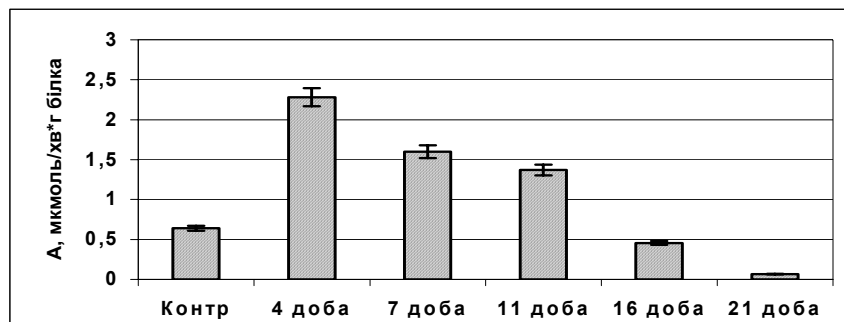


Рис. 1. Активність алкогольдегідрогенази в гомогенаті клітин печінки щурів при експериментальній алкогольній інтоксикації

Відомо, що реакція, яка каталізується цим ферментом: $\text{етанол} + \text{НАД}^+ \leftrightarrow \text{ацетальдегід} + \text{НАДН} + \text{H}^+$ характеризується положенням рівноваги, що при концентраціях етанолу, близьких до фізіологічних, зміщена вліво. Це відображає детоксикуючу дію алкогольдегідрогенази по відношенню до ацетальдегіду, що постійно утворюється при багатьох метаболічних процесах.

При хронічній алкогольній інтоксикації при дозах, що не викликають значного сп'яніння, рівновага реакції зміщується вправо. АДГ I і IV стають генераторами ацетальдегіду, який поступово накопичується у організмі. Пошкоджуючи ряд ензимів, надмолекулярних утворень, мембран і т.п., ацетальдегід індукує різноманітні патологічні процеси. До них відносяться, зокрема, модифікація аміно-, SH-, імідазольних груп амінокислот різних білків з утворенням ацетальдегідних аддуктів. Таким чином, ацетальдегід виступає в ролі потужного модифікатора білків, змінюючи їх просторові характеристики [2].

Відомо, що інгібіторами алкогольдегідрогенази є сполуки, що зв'язують цинк або взаємодіють з SH – групами. Подібну дію показано для 8-оксигіоліну, фенантроліну, етилендіамінтетраоцтової кислоти, біпіридину, 4-метилпіразолу, меркаптоетанолу [7,8] Тому поступове зниження активності досліджуваного ферменту, що було показано нами на 7-16 добу експерименту, можливо відбувається внаслідок зазначеної деградації клітинних структур через накопичення вмісту проміжного продукту метаболізму етанолу – ацетальдегіду, що здатен модифікувати SH – групи алкогольдегідрогенази.

Окрім цього, згідно літературних даних, накопичення ацетальдегідних аддуктів лежить в основі утворення аутоантитіл до АДГ I при тривалому споживанні етанолу. Було показано, що в дослідях на щурах невисокі, але достовірні титри аутоантитіл до АДГ виявляються

після 4–6-го тижня алкоголізації. Можливо, модифікована ацетальдегідом АДГ сприймається імунною системою як гетерогенний антиген. Таким чином, встановлене нами різке зниження активності досліджуваного ферменту на 21 день, можливо, відбувається внаслідок утворення аутоантитіл.

Висновок. При хронічній алкогольній інтоксикації активність алкогольдегідрогенази печінки щурів спершу різко зростала на 4 добу. У подальшому відбувалось зниження активності досліджуваного ферменту до контрольних значень на 7-16 добу. На 21 добу активність алкогольдегідрогенази була нижчою від контрольних значень. Встановлене нами зниження активності алкогольдегідрогенази можливо відбувається внаслідок деградації клітинних структур за рахунок дії ацетальдегіду та подальшого утворення аутоантитіл до досліджуваного ферменту.

1. Ашмарин И.П. АДГ млекопитающих – объект молекулярной медицины. – Успехи биологической химии. – т. 43. – 2003. – С. 3–18.
2. Зимин Ю.В., Сяткин С.П., Березов Т.Т. Надмолекулярная регуляция активности некоторых оксидоредуктаз клетки в норме и патологии. – Вопросы медицинской химии. – 2001. – № 3. 3. Лінський І.В., Мінко О.І., Первомайський Е.Б., Дьяченко Л.І., Мінко О.О. Прогнозування епідемії залежності від психоактивних речовин в Україні засобами популяційної екології // Новини української психіатрії. – Київ, Харків, 2006.
4. Пхакадзе Г.А., Коноплицкая К.Л., Познякова Т.Н. и др. // Укр. биохим. журн. – 1987. – Т. 59. – № 4. – С. 25–29. 5. Халілов М.Х., Закірходжаєв Ш.А. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Материалы тезисов 5-й научной конференции. – Москва, 1993. – С. 38–41. 6. Nakajima M., Kato J., Kohgo Y. et al (1993) Alcohol and alcoholism, 28 (SIB), 105–108. 7. Schindler J.F., Berst K.B., Plapp B.V. Inhibition of human alcohol dehydrogenases by formamides. – J. Med. Chem. – 1998. – 41. – P. 1696–1701. 8. Xie P., Parsons S.H., Speckhard D.C., Bosron W.F., Hurley T.D. X-ray structure of human class IV sigmoidal alcohol dehydrogenase. Structural basis for substrate specificity. J. Biol. Chem. – v. 272. – 1997. – P. 18558–18563.

Надійшла до редколегії 17.11.06

УДК 612.35+591.132.5

Л. Латищенко, асп., Є. Решетнік, канд. біол. наук,
С. Весельський, д-р біол. наук, М. Макачук, д-р біол. наук

ВПЛИВ СТАДОЛУ ТА НАЛОКСОНУ НА ЖОВЧОУТВОРЕННЯ ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД ЖОВЧІ У ЩУРІВ

В гострих спробах на щурах вивчали зовнішньосекреторну функцію печінки та зміни її органічних складових. При дії антагоністів опіоїдних рецепторів стадолу та налоксону у дозі 10 мг на 100 г маси тіла тварини практично не змінюється об'єм секретованої жовчі, однак спостерігається збільшення вмісту окремих її жовчних кислот під впливом стадолу та налоксону, котрі здатні по різному діяти на внутрішньоклітинні процеси метаболізму та транспорту органічних компонентів жовчі.

We studied a liver bile secretion function and changes of a bile organic contents in acute experiment on the rats. Stadol antagonists of opiod receptors and naloxon at the doses 10 mkg per 100 g of body weight did not change the speed of bile secretion. Though, we have researched increasing content some bile acids under doing stadol and nalaxon, which influence indifference for intracellular processes of organic bile components metabolism and transport.

Вступ. Жовчосекреторна функція печінки тварин тонко регулюється нейрогуморальною системою організму,

завдячуючи численним ефективним чинникам різної природи, в тому числі опіоїдним пептидам. Встановлено,

© Латищенко Л., Решетнік Є., Весельський С., Макачук М., 2007

що ліганди опіоїдних рецепторів пептидної і алкалоїдної природи, а саме енкефаліни і їх синтетичні аналоги, β -ендорфін, морфін впливають на інтенсивність секреції жовчі печінкою щурів [4, 7]. Автори припускають, що їх ефекти реалізується через зв'язування з опіоїдними рецепторами. Встановлено 5 типів опіоїдних рецепторів: δ , μ , κ , σ і ϵ . Було також запропоновано існування підтипів опіоїдних рецепторів [10], але існує не багато даних які б це підтверджували. Окрім того ні для одного типу опіоїдних рецепторів не описано повністю специфічного агоніста чи антагоніста. Всі опіоїдні агоністи/антагоністи тою чи іншою мірою можуть взаємодіяти з різноманітними типами опіоїдних рецепторів, при цьому для кожного їх типу описані найбільш типові агоністи/антагоністи [2].

З метою дослідження ролі взаємодії енкефалінів та їх аналогів з опіоїдними рецепторами для реалізації ефектів опіоїдних пептидів на жовчосекреторну функцію печінки ми провели дослідження з блокадою опіоїдних рецепторів стадолом та налоксоном.

Стадол (буторфанолу тартрат, морадол) – синтетичний анальгетик для парентерального застосування, який широко використовується в різних галузях клінічної медицини був синтезований в 1971 р. і зареєстрований в 1978 р. в США і Канаді під назвою стадол [1]. За хімічного будовою це 17-циклобутилетиметил-3,14-дигідроксиморфінан тартрат. Анальгетичний ефект стадолу реалізується за рахунок його взаємодії з каппа-опіоїдними рецепторами і значно меншою мірою через зв'язування з дельта- та міу-типами опіоїдних рецепторів [6].

Антагоніст опіоїдних рецепторів, налоксон (налоксону гідрохлорид), частіше всього застосовується в анестезіології та при шоківних станах. Вперше він був синтезований ще в 1960 році. Цей препарат досить легко проникає у мозок, тривалість його дії залежить від введеної дози і коливається від 1 до 4 годин. Механізм дії налоксону також залежить від його дози: в малих дозах ефекти препарату пов'язані з блокадою опіоїдних рецепторів, а у великих він діє як антагоніст кальцієвих каналів і здатний відновлювати знижений рівень внутрішньоклітинного кальцію. Крім того є данні про наявність у налоксону протизапальних та антиоксидантних властивостей. Впливаючи на наднирники, налоксон розгальмовує секрецію катехоламінів, яка пригнічується опіоїдними пептидами [2].

Незважаючи на широке застосування препаратів у клінічній практиці, дані про їх вплив на секреторну функцію печінки мало відомі. Встановлено, що стадол має антагоніст-агоністичні властивості стосовно опіоїдних рецепторів [1], а налоксон є конкурентним антагоністом опіоїдних рецепторів [2]. Ми зробили припущення, що стадол та налоксон, блокуючи різні підтипи опіоїдних рецепторів, можуть приводити до змін відповіді печінки на дію енкефалінів та поставили за мету з'ясувати ці порівняти ці зміни.

Об'єкт і методи досліджень. Експерименти проведено на білих щурах-самцях масою 180–220 г. Блокатори опіоїдних рецепторів інфузували внутрішньопортально протягом 30 хвилин: стадол або налоксон вводили у

дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини. Для дослідження секреторної функції печінки тваринам, що перебували під тіопенталовим наркозом (5 мг на 100 г маси тіла тварини, внутрішньочеревно), проводили лапаротомію з наступним канюлюванням загальної жовчної протоки. У зібраній жовчі методом тонкошарової хроматографії визначали кількісний і якісний вміст жовчних кислот [5]. Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично з застосуванням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Для з'ясування вище вказаного припущення ми вивчали як діють на секрецію жовчі стадол та налоксон. З цією метою ми дослідили динаміку секреції жовчі та спектр основних її органічних компонентів – жовчних кислот після внутрішньопортальної інфузії препаратів.

Стадол у дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини ($n=9$) не змінює порівняно з вихідним рівнем об'ємної швидкості секреції жовчі протягом трьох годин після інфузії, яка коливалась у межах $1,56\text{--}1,65\text{ мкл}\cdot\text{г}^{-1}\text{ печінки}\cdot\text{хв}^{-1}$.

Налоксон у дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини ($n=6$) також практично не змінює порівняно з вихідним рівнем об'ємної швидкості секреції жовчі, яка коливалась у межах $1,99\text{--}2,25\text{ мкл}\cdot\text{г}^{-1}\text{ печінки}\cdot\text{хв}^{-1}$.

Тобто, інтенсивність секреції жовчі в присутності стадолу та налоксону за динамікою була подібною до такої в контрольній групі тварин за умов інфузії фізіологічного розчину. Однак, загальний об'єм жовчі виділеної за одиницю часу печінкою під впливом налоксону був більшим ніж під дією стадолу і за весь дослід на 36% перевищив рівень холерезу порівняно з останнім.

У той самий час під впливом антагоністів опіоїдних пептидів спостерігаються істотні зміни в секреції жовчних кислот порівняно з вихідним рівнем їх секреції.

Жовчні кислоти є основними осмотично активними органічними компонентами жовчі, які виконують функцію ендогенних регуляторів жовчосекреторних процесів [3, 8]. Вони є специфічним продуктом діяльності гепатоцитів, і утворюються в результаті багатьох метаболічних реакцій перетворення холестерину [8]. Більша частина жовчних кислот зв'язується з таурином або гліцином, утворюючи тауро- і глікокон'югати. Кон'юговані жовчні кислоти більш водорозчинні, а тому легше секретуються з жовчю. За даними літератури у жовчі щурів таурококон'югати складають 54,6%, глікококон'югати 34,9%, а вільні жовчні кислоти 10,5% від загального їх пулу. Холева і таурохолева кислоти в загальному пулі жовчних кислот у щурів складають 6,0% і 43,6% відповідно [3].

Як вказувалося раніше [6] введення стадолу піддослідним щурам викликає збільшення секреції із жовчю таурохолевої, таурохоленедезоксихолевої й тауродезоксихолевої кислот, на 22,1% і 28,8% ($P<0,05$), відповідно, а глікохолевої кислоти на 18,1% ($P<0,05$) впродовж третьої години після завершення інфузії. Рівень секреції із жовчю піддослідних тварин холевой кислоти зростає впродовж другої – третьої дослідних годин на 17,0% ($P<0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1. Інтенсивність секреції жовчних кислот (мкг/г печінки/хв, $M\pm m$) після внутрішньопортальної інфузії стадолу в дозі 10мкг на 100г маси тіла ($n=9$)

Час досліду, хв	Жовчні кислоти					
	Таурохолева	Таурохоленедезоксихолева і тауродезокси-холева	Глікохолева	Глікохоленедезоксихолева і гліко-дезоксихолева	Холева	Хенодесоксихолева і дезокси-холева
30	$2,80\pm 0,11$	$2,24\pm 0,11$	$1,95\pm 0,05$	$0,16\pm 0,02$	$0,44\pm 0,03$	$0,12\pm 0,01$
60 інфузія	$2,64\pm 0,15$	$1,97\pm 0,04$	$1,83\pm 0,04$	$0,15\pm 0,02$	$0,42\pm 0,03$	$0,11\pm 0,001$
90 хв.	$2,92\pm 0,15$	$2,26\pm 0,07$	$2,03\pm 0,05$	$0,18\pm 0,01$	$0,46\pm 0,03$	$0,13\pm 0,004$
120 хв.	$2,95\pm 0,22$	$2,28\pm 0,15$	$2,05\pm 0,10$	$0,19\pm 0,02$	$0,46\pm 0,03$	$0,13\pm 0,01$
150 хв.	$3,02\pm 0,29$	$2,40\pm 0,17$	$2,08\pm 0,20$	$0,18\pm 0,01$	$0,50\pm 0,02$	$0,14\pm 0,02$
180 хв.	$3,05\pm 0,31$	$2,43\pm 0,20$	$2,10\pm 0,21$	$0,18\pm 0,01$	$0,51\pm 0,02^*$	$0,14\pm 0,02$
210 хв.	$3,31\pm 0,25^*$	$2,71\pm 0,13^*$	$2,22\pm 0,17$	$0,17\pm 0,01$	$0,49\pm 0,01$	$0,14\pm 0,01$
240 хв.	$3,42\pm 0,21^*$	$2,89\pm 0,20^*$	$2,30\pm 0,14^*$	$0,19\pm 0,02$	$0,51\pm 0,02^*$	$0,14\pm 0,01$

Примітка. * – $P<0,05$.

Відставлений у часу ефект стадолу, можливо, пов'язаний з пролонгованим впливом препарату обумовленим тривалим часом його розпаду [1].

Таким чином, у застосованій нами дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини стадол хоча і не змінював істотно швидкість секреції жовчі, але впливав на секрецію її органічних компонентів – жовчних кислот. Ефекти стадолу на жовчосекреторну функцію, вірогідно, пов'язані з його дією як блокатора опіоїдних рецепторів. За даними літератури стадол впливає переважно як агоніст на каппа-опіоїдні рецептори та як антагоніст на дельта- і міу-рецептори [1]. Така взаємодія веде до перебудови метаболічних процесів в клітинах печінки шурів і про-

явилася в незначній активації поліферментних комплексів, забезпечуючи процеси кон'югації жовчних кислот з таурином і гліцином, про що свідчить підвищена секреція тауро- та холевої кислоти, що вказує на підсилення біосинтезу жовчних кислот нейтральним шляхом [9].

Зовсім по-іншому на обмін жовчних кислот в печінці шурів впливав налоксон, котрий зумовив незначне зменшення секреції тауро- і глікокон'югатів із жовчю. При цьому під дією даного препарату спостерігалось істотне зростання секреції вільних хенодезоксихолевої та дезоксихолевої кислот до 25% ($P < 0,05$) впродовж досліджу (табл. 2).

Таблиця 2. Інтенсивність секреції жовчних кислот (мкг/хв, $M \pm m$) після внутрішньопортальної інфузії налоксону в дозі 10мкг на 100г маси тіла тварини (n=6)

Час досліджу, хв	Жовчні кислоти					
	Таурохолева	Таурохенодезоксихолева і тауродезокси-холева	Глікохолева	Глікохенодезоксихолева і гліко-дезоксихолева	Холева	Хенодезоксихолева і дезоксихолева
30	3,56±0,17	2,36±0,33	3,43±0,11	0,36±0,09	0,18±0,04	0,12±0,03
60 інфузія	3,38±0,18	2,30±0,48	3,51±0,24	0,31±0,12	0,18±0,04	0,15±0,04
90	3,36±0,12	2,17±0,36	3,37±0,18	0,32±0,09	0,17±0,02	0,15±0,03
120	3,31±0,12	2,24±0,38	3,15±0,15	0,29±0,09	0,19±0,04	0,15±0,03
150	3,19±0,17	2,17±0,30	3,01±0,20	0,24±0,10	0,17±0,04	0,15±0,02*
180	3,15±0,12	2,19±0,35	3,13±0,12	0,25±0,10	0,18±0,03	0,16±0,02*

Примітка. * – $P < 0,05$.

Застосований нами блокатор опіоїдних рецепторів налоксон теж практично не змінював швидкість секреції жовчі впродовж досліджу, хоча об'єм секретованої жовчі був більшим ніж при введенні стадолу чи у контрольних досліджах. За даними літератури налоксон – прямий антагоніст морфіну, має спорідненість до всіх трьох підтипів опіоїдних рецепторів, але найбільш ефективно він зв'язується з μ -рецепторами. Встановлена здатність налоксону змінювати частоту серцевих скорочень, активність дихального центру. Такі ефекти нагадують дію морфіну в схожих умовах експерименту. Цей ефект був слабший в порівнянні з дією "класичних" опіоїдних агоністів, але сама його присутність дозволила авторам говорити про часткову антагоністичну активність налоксону [2]. У наших дослідженнях виявлено, що взаємодія налоксону з відповідними рецепторами клітин печінки при внутрішньопортальному введенні сприяла значному підсиленню біосинтезу вільних диоксихоланових жовчних кислот, яке тісно пов'язане зі зміною активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій [9].

Отже, внутрішньопортальна інфузія стадолу та налоксону веде до змін в секреції певних жовчних кислот з жовчю, що вказує на те, що як стадол так і налоксон здатні по різному діяти на внутрішньоклітинні процеси метаболізму та транспорту органічних компонентів жовчі. Виявлено також дещо відставлений в часі вплив стадолу при зв'язуванні його з опіатними структурами після внутрішньовенного введення препарату, а основний ефект стадолу надійно усувається застосуванням прямого антагоніста опіатних рецепторів налоксону [1]. Слід відзначити, що антагоністичний вплив стадолу на дельта- і міу-рецептори та налоксону на опіоїдні рецептори всіх типів унеможливило гіпохолеретичну дію ендогенних енкефалінів, присутніх в організмі піддослідних тварин, що збігається з отриманими нами результатами досліджень. Зміни секреції органічних компонентів жовчі при внутрішньопортальному введенні стадолу та незначні зміни вмісту жовчних кислот піс-

ля введення налоксону можна пояснити їх активуючою або блокуючою дією на різні типи опіоїдних рецепторів.

Висновки. Отримані нами дані вказують на те, що взаємодія стадолу та налоксону з різними рецепторними системами гепатоцитів супроводжується відповідними змінами в обміні речовин у клітинах печінки і разом з тим змінює хід процесів в різних ланках метаболізму тісно пов'язаних із жовчоутворенням, що відобразилось у змінах біосинтезу окремих груп жовчних кислот. Виявлені ефекти стадолу і налоксону на функціональний стан печінки слід враховувати при застосуванні цих препаратів у лікувальній практиці.

1. Авруцкий М.Я., Смольников П.В., Ширяев В.С. // Стадол – альтернатива наркотических анальгетиков. – 1994. – 120 с. 2. Головки А.И., Головки С.И., Леонтьева Л.В., Романенко О.И., Конопкин Д.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Т. 66. – С. 71–78. 3. Долгова О.М. Секреторная функция печени при действии жовчних кислот: Автореф. дис. канд. біол. наук. – К., 1997. – 17 с. 4. Масюк Т.В., Весельский С.П., Масюк А.І. // Физиологический журнал. – 1995. – Т. 41, № 3–4. – С. 3–8. 5. Патент 99031324, Україна, МБН А61В5/14. Способ підготовки проб біоридин для визначення вмісту речовин ліпідної природи: Пат. 9901324 Україна, МБН А61В5/14/ С.П. Весельський, П.С. Лященко, С.І. Костенко, З.А. Горенко, Л.Ф. Куровська – № 33564А; Заявл. 05.10.1999; опубл. 15.02.2001; Бюл. №1. 6. Решетнік С.М., Долгова О.М., Весельський С.П., Рибальченко В.К. Вплив стадолу на інтенсивність секреції жовчі печінкою шурів та спектр жовчних кислот та ліпідів жовчі // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. – 2002. – Випуск 37. – С. 100–102. 7. Bergasa N.V., Zhou J., Ravi J., Shi Q. The opioid peptide analog D-Ala2-Met-enkephalinamide decreases bile flow by a central mechanisms // Peptides. – 1999. – V 20. – P. 979–986. 8. Boyer J.L., Nathanson M.H. Bile formation // Schiff's diseases of the liver /ed. E.R. Schiff, M.F. Sorrell, W.C. Maddrey. – Philadelphia, 1999. – P. 119–146. 9. Hofmann A.F., Schteingart C.D., Hagey L.R. Species differences in bile acid metabolism // Bile acids in liver diseases. – Dordrecht, Boston, London, 1995. – P. 3–30. 10. Traynor J., Elliot J. δ -opioid receptor subtypes and crosstalk with μ -receptors // Trends in Pharmacological Sciences. – 1993. – V. 14. – P. 84–85.

Надійшла до редколегії 22.03.07

НОВА CURLED-LIKE МУТАЦІЯ DROSOPHILA VIRILIS

Отримано нову мутацію *D. virilis*, яка призводить до появи фенотипу "закручені догори крила". Досліджено тип успадкування, визначено локалізацію, описано фенотип, генетичні взаємодії. Проведено порівняння отриманої мутації з раніше описаними мутаціями *D. melanogaster*, що викликають розвиток подібного фенотипу.

A new wing mutation was observed in progeny of dysgenic crosses of *D. virilis*. Type of inheritance and localization were established. Phenotype and genetic interactions were described. Newly observed mutation was compared with *D. melanogaster* mutations, which results in curled-like wing phenotype.

Вступ. Інтерес до вивчення мутацій, що порушують процеси розвитку крила, пов'язаний з тим, що механізми морфогенезу цього органу дуже консервативні, а сигнальні системи клітинної диференціації та специфікації, які беруть участь у цих процесах, описані для багатьох систематичних груп. Тому крило дрозофілід є класичною експериментальною моделлю для вивчення механізмів закладки та росту органів [1].

За останні роки було описано велику кількість генів, представників декількох різних сигнальних шляхів, які обумовлюють специфічний характер експресії генів в процесі розвитку крила [2]. Також були описані загальні принципи морфогенезу крила *Drosophila*, які демонструють індивідуальність генетичних програм розвитку жилок крила та міжжилкового простору. В той же час мало що відомо про гени, які впливають на планарність крила, та про їх роль у процесах онтогенезу [3, 4].

Історично склалося так, що найбільш вивченим представником дрозофілід є *D. melanogaster*, яка в той

же час є одним з еволюційно наймолодших видів цього роду. В останні роки спостерігається інтерес до дослідження геномів різних представників роду *Drosophila*, і чи не найчастіше в такі дослідження залучається один з еволюційно найстаріших видів цього роду *D. virilis*.

Метою цієї роботи було охарактеризувати нову криловою мутацію *D. virilis* та порівняти її з вже описаними подібними мутаціями у *D. melanogaster*. Мутація отримала назву *curled-like* (*curl*), оскільки як демонструють наші дослідження вона подібна мутації *curled* *D. melanogaster*. Вжити відповідний символ для *D. virilis* заважає той факт, що у цього виду вже існує інший ген з таким позначенням [5].

Об'єкт та методи досліджень. В роботі використовували колекцію мутантів *D. virilis* кафедри загальної та молекулярної генетики біологічного факультету КНУ імені Тараса Шевченка. Детальна характеристика використаних ліній наведена в табл. 1.

Таблиця 1. Список використаних ліній *D. virilis*

Лінія	Мутації			Фенотип
	Символ	Назва	Локалізація	
9	<i>wt</i>	<i>wild type</i>	-	Дикий тип, отримана з популяції Батумі
<i>DI</i> ¹⁶⁷	<i>DI</i>	<i>Delta</i> ¹⁶⁷	2-45,0	Дельтаподібні напливи на L2, іноді на інших повздовжніх та поперечних жилках
<i>y Bx w</i>	<i>y</i>	<i>yellow</i>	1-2,9	Тіло жовтого кольору, щетинки та волоски сірого
	<i>Bx</i>	<i>Beadex</i>	1-94,5	Вирізки по краю крила
	<i>w</i>	<i>white</i>	1-105,0	Очі білого кольору
<i>e va</i> (140)	<i>e</i>	<i>ebony</i>	2-83,5	Тіло чорного кольору
	<i>va</i>	<i>varnished</i>	2-231,5	Зменшені очі яскраво червоного кольору
<i>cd</i>	<i>cd</i>	<i>cardinal</i>	4-32,2	Яскраво червоне забарвлення очей

Новий *curled-like* мутант *D. virilis* з деформацією поверхні крила був отриманий у потомстві від дизгенних схрещувань самок лінії 9 з самцями лінії *y Bx w*. Мух утримували в скляних пробірках на стандартному поживному середовищі при температурі 25°C [6].

Для встановлення типу спадкування ставили реципротні схрещування. Аналізували не менше 100 особин потомства від кожного схрещування.

Для визначення локалізації нової мутації проводили рекомбінаційний тест з використанням ліній *DI*¹⁶⁷ та *e va*. Місцеположення нової мутації відносно відомих локусів, використаних для картування, визначали за функцією Холдейна, що враховує частоту рекомбінації з поправкою на частоту подвійних обмінів [7].

Цитологічний аналіз політених хромосом слинних залоз гетерозиготних самок для виявлення можливих аберацій, асоційованих з новою мутацією, проводився за стандартними методиками [6].

Для дослідження генетичних взаємодій нової мутації з іншими криловими мутаціями та генами – компонентами сигнальних систем, отримували мух, що одночасно несли нову та одну чи більше інших мутацій. Було синтезовано лінії, особини яких мали генотип: *curl/curl*; *DI/DI*¹⁶⁷ (на основі ліній *curled-like* та *DI*¹⁶⁷); *curl/curl*; *e/e*; *va/va* (на основі ліній *curled-like* та *e va*) та *curl/curl*; *cd/cd* (на основі ліній *curled-like* та *cd*). Лінії підтримува-

ли шляхом масових схрещувань при температурі 25°C. Особливості фенотипу крила аналізувалися не менш ніж у 100 особин в кожній лінії, враховуючи модифікації прояву *DI*, *e*, *va* та *cd* мутантних фенотипів [8]. У якості контролю використовували особин вихідних ліній. У випадку коли не спостерігалось ніяких модифікацій прояву ознак у особин синтезованих ліній у порівнянні з вихідними, результати таких схрещувань не наводяться та не обговорюються, за винятком випадків, коли змінювався характер спадкування однієї з ознак.

Результати та їх обговорення. У реципротних схрещуваннях з лінією дикого типу всі особини першого покоління характеризувалися нормальною формою крила, в F2 спостерігалось розщеплення на особин дикого типу та мутантних у співвідношенні 3:1, що свідчить про те, що мутантна ознака рецесивна, не зчеплена зі статтю, контролюється одним геном та не впливає на життєздатність.

Цитологічний аналіз політених хромосом слинних залоз гетерозиготних самок не виявив ніяких помітних аберацій, що дозволяє зробити висновок про те, що мутація є генною, а не хромосомною.

Генетичне картування отриманої мутації проводили в два етапи. Спочатку провели серію схрещувань з лінією *DI*¹⁶⁷, що дали змогу з використанням функції Холдейна визначити відстань від локусу *DI* до нової мутації, яка становила 39 cM. Для з'ясування розташування

нової мутації відносно локусу *DI*, провели схрещування з лінією *e va*, обидві мутації, що несе ця лінія знаходяться дистально від *DI*. З локусами *e ta* та *va* було отримано вільне комбінування, що свідчить про те, що досліджувана мутація знаходиться у проксимальному положенні відносно локусу *DI*. Більш точну її локалізацію вказати неможливо без використання додаткових маркерів, оскільки відстань між новою мутацією та локусом *DI* у 39 сМ є надто великою, щоб бути точною. Вважається, що говорити про відсутність похибки при локалізації нової мутації можна у випадку, коли відстань між нею та використаними маркерами не перевищує 10 сМ [7]. Отже, досліджувана мутація розташована в проксимальній ділянці 2 хромосоми, але більш точна її локалізація потребує додаткових маркерів.

Отримані мутантні особини мали характерний фенотип. Крило загнуте догори та відведено вбік (рис. 1 а). Біля дистального краю крила спостерігається складка дорзального шару кутикули. Це свідчить про те, що деформація крила відбувається не за рахунок зменшення площі дорзального шару кутикули, а за рахунок порушення розташування жилок в одній площині. В районі кутикулярної складки волоски крила ха-

рактеризуються порушенням просторової орієнтації, що також підтверджує висновок про визначальну роль у формуванні цього фенотипу порушень внутрішньої структури жилок. Про це свідчить також той факт, що у мутантних інтактних імаго спостерігається порушення структури жилки L3, які при приготуванні препарату крила зникають, що в свою чергу може свідчити про інтактність кутикули, яка вкриває жилки. Загалом все крило при такому фенотипі нагадує парус, що знову ж таки свідчить про інтактність структур міжжилкового простору. Отже, можна припустити, що у формуванні крила такого типу ключову роль відіграють порушення внутрішньої структури жилок, і, відповідно, патерна генів, що відповідають за її формування.

Крім порушень розвитку крила, у мутантних особин також спостерігається зміна кольору тіла: Він більш темний у порівнянні з диким типом, з бічних сторін тораксу спостерігається поява двох повздовжніх коричневих смуг.

Фенотип мутантних особин також характеризувався порушенням просторової орієнтації постскутеллярних щетинок, вони, як правило, у мутантних особин пере-хрещені (рис. 1б, в).

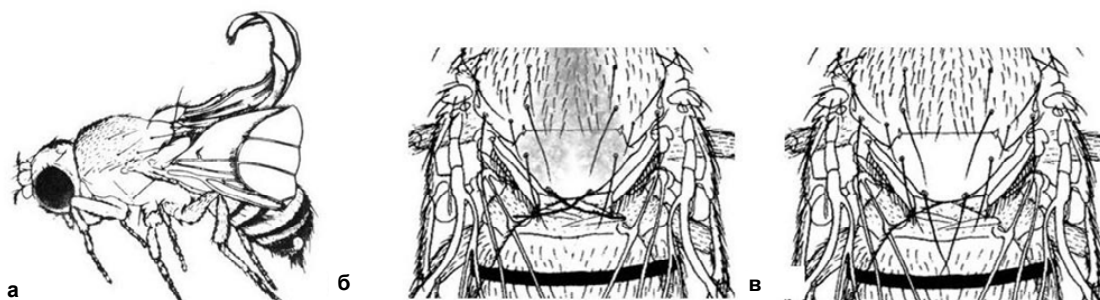


Рис. 1. Фенотиповий прояв нової *curled-like* мутації *D. virilis*: а – загальний вигляд мутантної особини; б, в – торакс та постскутеллярні щетинки мутантної особини та особини дикого типу відповідно

В ході даної роботи також проводилася перевірка на наявність генетичних взаємодій нової мутації з іншими криловими мутаціями та генами – компонентами сигнальних систем *D. virilis*. Було з'ясовано, що у особин, що окрім досліджуваної мали мутацію *ebony*, рецесивна *curl* мутація у 100% випадків проявлялася в гетерозиготі. Необхідно відмітити, що серед генетичних взаємодій локусу *ebony D. melanogaster* ген *curled* не відомий [9]. Отже, можливо, що в процесі дивергенції видів цю генетичну взаємодію видом *D. melanogaster* було втрачено, або існуюча у *D. melanogaster* мутація цього локусу не дозволяє виявити таких взаємодій на відміну від досліджуваної.

В той же час, в жодному випадку не спостерігалось зміни фенотипового прояву для інших використаних для дослідження мутацій, тому дані щодо таких схрещувань не наводяться. Отже, для нової *curled-like* мутації *D. virilis* показано наявність генетичних взаємодій з мутацією *ebony*, не виявлено взаємодій з *Delta*, *varnished* та *cardinal*.

Як вже згадувалося, процеси морфогенезу крила є консервативними, тому не дивно, що у *D. melanogaster* на сьогоднішній день вже описано декілька мутацій, що призводять до появи фенотипу "закручені догори крила". Це насамперед *curled*, *Curly*, *Upturned*, *Curl*, та *cui*. За літературними даними, аналіз з використанням гібридизації *in situ* показав, що до проксимальної ділянки 2 хромосоми *D. virilis*, де розташована описана мутація, є гомологічною ділянкою 3 хромосоми *D. melanogaster*, у якій локалізована крилова мутація *curled* [10]. Крім того, обидві мутації ма-

ють схожий фенотип: крила загнуті догори та відведені вбік, утворюється характерна складка дорзального шару кутикули біля дистального краю крила, порушена просторова орієнтація волосків крила та постскутеллярних щетинок, змінюється характер забарвлення тіла.

Висновки. Отримана нами мутація крила вперше описана у *D. virilis*. Нова мутація рецесивна, плейотропна, локалізована в проксимальній ділянці 2 хромосоми, взаємодіє з мутацією *ebony*, не взаємодіє з мутаціями *Delta*, *varnished* та *cardinal*. Фенотипово мутація проявляється у вигляді загнутих догори крил, порушення просторової орієнтації постскутеллярних щетинок та волосків крила а також більш темного забарвлення тіла. За фенотиповим проявом та локалізацією нова мутація *D. virilis* подібна до *curled D. melanogaster*, тому отримала таку саму назву та символ *curl*.

1. Albagli O, Pelczar H. Myc and cell competition in Drosophila // Med Sci – 2006. – Vol. 22, № 8-9. – P. 695.
2. Nan Ren, Chunming Zhu, Haeryun Lee, Paul N. Adler Gene expression during Drosophila wing morphogenesis and differentiation // Genetics – 2005. – Vol. 171. – P. 625–638.
3. Cristina Molnar, Ana Lopez-Varea, Rosario Hernandez, Jose F. de Celis A gain-of-function screen identifying genes required for vein formation in the Drosophila melanogaster wing // Genetics. – 2006. – Vol. 174. – P. 1635–1659.
4. L.A. Baena-Lopez and A. Garcia-Bellido. Control of growth and positional information by the graded vestigial expression pattern in the wing of Drosophila melanogaster // Proc Natl Acad Sci USA. – 2006. – Vol. 103, № 37. – P. 13734.
5. Chino. The genetics of Drosophila virilis // Jpn J. Genet. – 1936. – Vol. 12. – P. 189–210.
6. Drosophila. A practical approach / edited by D.B. Roberts – IRL Press, 1986 – 295 p.
7. Тухомирова М.М. Генетический анализ. – Л.: изд-во Ленинградского университета, 1990. – 280 с.
8. Козерецкая И.А., Жук О.В. Генетические взаимодействия аллелей локуса *Delta* с мутациями, нарушающими развитие крыла у *Drosophila virilis*. *Delta* и мутации, связанные с отсут-

твием жилок крыла.// Биополимеры и клетка – 1999. – том 15. – №3. – С. 230–236. 9. FlyBase Gene Report ID FBgn0000387. 10. Whiting J.H., J., Pliley M.D., Farmer J.L., Jeffery D.E. In Situ Hybridization Analysis of

Chromosomal Homologies in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila virilis*.// Genetics. – 1989. – Vol. 122. – P. 99–109.

Надійшла до редколегії 13.03.07

УДК 633.34:631.527:631.526.26:631.524

Н. Таран, д-р біол. наук, проф., О. Ситар, канд. біол. наук,
Н. Карпенко, канд. біол. наук

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ВІТЧИЗНЯНИХ СОРТІВ *GLYCINE MAX* (L.) MERR

Досліджено біохімічні параметри 8 сортів Glycine max (L.) Merr. 3 сорти сої культурної рекомендовано для вирощування. Biochemical parameters of 8 sorts Glycine max (L.) Merr. was investigated. 3 sorts of Glycine max was recommended for growing.

Вступ. На сучасному етапі розвитку світового сільськогосподарства інтенсивно впроваджуються технології використання сої як економічно вигідної культури для харчової, текстильної промисловості та медицини. Великий вміст високоякісного легкозасвоюваного білка (34–40%) у насінні та вегетативній масі, значна кількість вітамінів, мінеральних речовин та олії обумовлюють важливість її використання як цінної продовольчої культури [3, 4].

В останні роки зусиллями селекціонерів в Україні створено і занесено до Реєстру сортів рослин 53 вітчизняних сортів сої, які здатні забезпечувати стабільні урожаї зерна на рівні 25–30 ц/га, але потенційні їх можливості використовуються ще недостатньо [5]. На сьогодні для покращення методів сортової ідентифікації та визначення найбільш перспективних сортів сої культурної актуальним є вивчення біохімічного складу різних сортів, враховуючи основні показники якості насіння [1].

Це, насамперед, вміст білка, характеристика електрофоретичних білкових спектрів, а також вміст сполук тіолової природи.

Тому метою нашої роботи було дослідження вказаних параметрів біохімічного складу насіння у різних сортів сої.

Об'єкт і матеріали досліджень. Об'єктом досліджень було 8 сортів сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.): Одеська-150, Берегиня, Донька, Аркадія Одеська, Алтай, Хаджибей, Мар'яна, Чорнобура. Вміст білка у насінні різних сортів сої визначали за методом Лоурі [7], вільних тіолів – за методом Елмана [6]. Електрофоретичне дослідження білків насіння проводили за методикою Леммлі (у модифікації Конарева) [2].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження білкового складу насіння різних сортів продемонстрували, що вищим вмістом білка характеризувались сорти сої *Мар'яна*, *Берегиня*, *Одеська-150*, *Хаджибей* та *Аркадія Одеська* (рис. 1).

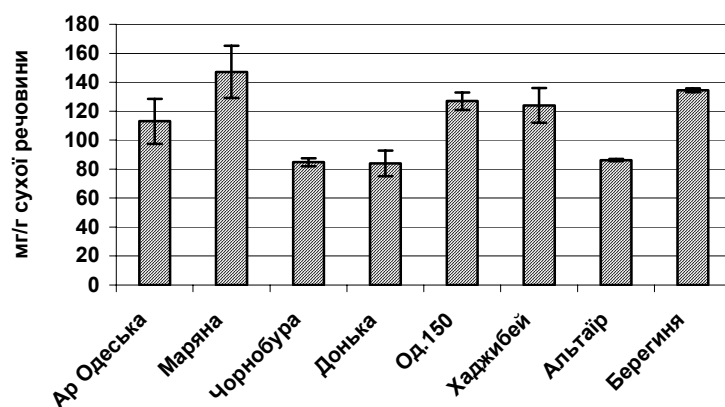


Рис. 1. Загальний вміст білка у насінні досліджуваних сортів сої

Дослідження складу вільних тіолів різних сортів продемонструвало, що сорт *Донька* мав значно вищий їх вміст. Високим вмістом вільних тіолів характеризувалися також сорти *Аркадія Одеська* та *Одеська-150*. Оскільки до вільних тіолів відносяться такі сполуки, як глютаціон, цистеїн, цистін, які визначають якість насіння сої, то ми звернули увагу на раніше проведені дослідження амінокислотного складу різних сортів зерна сої. Дані літератури підтвердили, що сорт *Аркадія Одеська* характеризувався високим вмістом метіоніну та цистіну [7]. Тому при характеристиці якості насіння для комплексної оцінки вмісту сірковмісних амінокислот та глютаціону можна використовувати метод визначення вільних тіолів.

Поряд з визначенням вмісту білка та вільних тіолів для виділення перспективних сортів сої з підвищеним вмістом білка та сірковмісних сполук важливо досліди-

ти склад запасних білків сої. Результати проведених нами досліджень дали можливість встановити наступний спектр білкових фракцій насіння досліджуваних сортів сої. Спектри білків у даній вибірці сортів містили від 9 до 11 фракцій (рис. 3), з них 4–7 фракцій мажорних, решта – міnorних. Дев'ять фракцій, з них три мажорні з молекулярними масами 21, 38, 67 кДа, чотири міnorні з молекулярними масами 22, 30, 45, 52 кДа, та дві фракції несталої інтенсивності (80 та 95 кДа) були притаманні всім сортам. Дві фракції з молекулярними масами 20 та 87 кДа, що відповідають масам основної субодиниці леугеміну та альбуміну, відповідно, виявились сорт-специфічними.

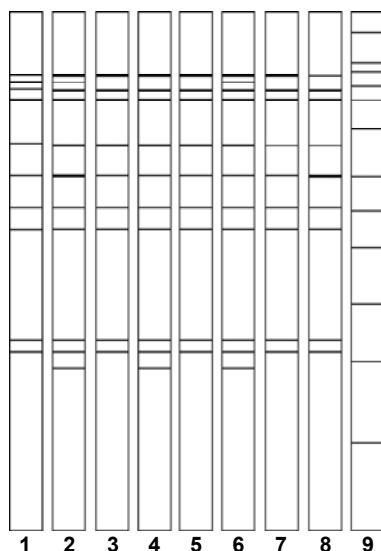


Рис. 3. Еталонні електрофоретичні спектри запасних глобулінів насіння сортів *Glycine max*:

- 1 – Одеська-150; 2 – Берегиня; 3 – Донька;
4 – Аркадія Одеська; 5 – Альтаїр; 6 – Хаджибей;
7 – Мар'яна; 8 – Чорнобура;
9 – суміш маркерних білків (Sigma Marker)
(205, 116, 97, 84, 66, 55, 45, 36, 29, 24, 20, 14, 2 кДа)

Кластерний аналіз за відсотком незбіжностей білкових фракцій з урахуванням інтенсивності цих фракцій підтвердив сортову самостійність сортів, за винятком сортів Донька та Альтаїр.

УДК 578.85/86

Висновки. Таким чином, за результатами проведених досліджень можна зробити висновок, що з наявних сортів можна відібрати найбільш перспективні за вмістом білка та вільних тіолів. Сорти Берегиня, Донька, Аркадія Одеська, які мають найвищі показники за цими параметрами, можуть бути рекомендовані для розширення їх використання в якості найбільш цінних харчових сортів.

Електрофорез запасних глобулінів та альбумінів насіння сої культурної може бути використаний для сортової ідентифікації: сорти можна ідентифікувати за наявністю або відсутністю поліпептидних фракцій з молекулярними масами 20 кДа та 87 кДа, що відповідають фракціям основної субодиниці леугміну та альбуміну.

1. Головаченко В., Левандовська Л., Хоменко А., Михайлов В., Соколова Н., Щербина О. Амінокислотний та жирнокислотний склад зерна сої // *Натуралізм*. – К., 1995. №4. – С. 6–8.
2. Конярев В.Г. Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений // *Научное пособие*. – Санкт-Петербург, 2000. – 186 с.
3. Лещенко А.К., Сичкар В.И., Михайлов В.Т., Марьюшкин В.Ф. Соя. – К.: Наукова думка, 1987. – 255 с.
4. Сичкар В.И. Варьирование количества белка и аминокислотного состава у сои // *Физиология и биохимия культурных растений*. – М., 1992. – Т. 24, №2. – С. 153–158.
5. Ткачик С.О. Особливості прояву ідентифікаційних ознак рослин сої (*Glycine max* (L.) Merr.) та їх використання при експертизі сортів на охороноздатність: Автореф. дис... канд. с-г. наук: 06.01.06 // Інститут землеробства УААН. – К., 2003. – 18 с.
6. Elman G.L. Tissue Sulfhydryl Groups // *Archives of biochemistry and biophysics*, 1959. – Vol. 82, №1. – P. 70–77.
7. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*, 1958. – V. 193, №1. – P. 265–275.

Надійшла до редколегії 19.12.06

А. Бисов, канд. біол. наук, Г. Коротєєва, канд. біол. наук,
В. Поліщук, д-р біол. наук., Ш. Хонг, канд. біол. наук,

СКРИНІНГ ВІРУСНИХ ХВОРОБ ЧОРНОГО ПЕРЦЮ (*PIPER NIGRUM* L.) В УМОВАХ ПІВДЕННОГО В'ЄТНАМУ

Проаналізовано поширення вірусів рослин чорного перцю (*Piper nigrum* L.) на території Південного В'єтнаму. Показано, що найбільш розповсюдженим патогеном чорного перцю у сільськогосподарських провінціях Ба Ріа-Вунг Тау та Донг-Най є вірус огіркової мозаїки.

Spread of viruses infecting black pepper on the territory of South Vietnam was analyzed. Cucumber mosaic virus was demonstrated to be the most common pathogen in areas of Ba Ria – Vung Tau and Dong Nai – main agriculture provinces of South Vietnam.

Вступ. В останні роки у світі збільшилися об'єми споживання тропічних та субтропічних рослин і, зокрема, чорного перцю [4]. Підвищення інтенсивності виробництва цих культур є основою економічного зростання країн, де вони вирощуються. Нині В'єтнам займає передові позиції в світі з експорту прянощів, що виробляється з плодів чорного перцю (*Piper nigrum* L.).

Подальший розвиток сільського господарства передбачає зниження втрат врожаю від шкідників та хвороб, зокрема вірусної природи. Для створення ефектної стратегії боротьби з вірусними хворобами чорного перцю необхідно встановити етіологічні агенти цих хвороб на всій території вирощування культури, виявити шляхи їх передачі й збереження в агроценозах, визначити додаткові фактори, що негативно впливають на рослини і підсилюють розвиток інфекцій, розробити діагностичні тест-системи для виявлення та ідентифікації патогенів. Такий підхід необхідний для прогнозування розвитку вірусних хвороб та прийняття надійних стратегій боротьби з ними.

Метою даної роботи було виявлення та ідентифікація збудників вірусних хвороб чорного перцю і визначення найпоширеніших із них.

Об'єкти та методи досліджень. Для дослідження біологічних характеристик вірусів та їх різноманіття відбирали зразки рослин чорного перцю (*Piper nigrum* L.) шляхом візуального обстеження на наявність вірусоподібних симптомів в головних провінціях Південного В'єтнаму: Ба Ріа-Вунг Тау та Донг-Най. Плантації, де вирощують та виробляють якісні сорти чорного перцю, займають основну частину площ цих провінцій. Зразки рослин відбирали в трьох повторностях з трьох точок методом рандомізованого польового експерименту в стерильні пакети.

Гомогенізацію рослинного матеріалу здійснювали у фосфатному буферному розчині (ФСБ, pH 7,4) у присутності 0,001М ЕДТА у співвідношенні 1:2 (w/v) з подальшим низькошвидкісним центрифугуванням (5 тис. об/хв) протягом 15 хв. при 4°C. Отриманий гомогенат використовували для детекції вірусів методом непрямого іму-

ноферментного аналізу (ІФА) [2]. Для діагностики застосовували поліклональну сироватку до вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ), отриману на кафедрі вірусології КНУ імені Тараса Шевченка, поліклональні сироватки до Х-вірусу картоплі (ХВК) та У-вірусу картоплі (УВК), отримані в інституті сільськогосподарської мікробіології (Чернігів) та сироватку до вірусу огіркової мозаїки (ВОМ), люб'язно надану колегами з Інституту дослідження стійкості та діагностики патогенів (Ашерслебен, Німеччина). Результати аналізу реєстрували на рідері Dynatech при довжині хвилі 405 нм. Позитивними вважали зразки, оптична густина яких була в 2 рази більше, ніж оптична густина вільних від вірусів контролей.

Зразки рослин, у яких було виявлено вірусні антигени за результатами в ІФА, надалі були обстежені за допомогою електронного мікроскопу. Препарати освітленого рослинного соку контрастували 2% водним розчином уранілацетату ("Serva", Німеччина) протягом 2 хв і досліджували за допомогою електронного мікроскопу марки EM-120 (Суми, Україна) при інструментальному збільшенні 30-40 тис.

Результати та їх обговорення. У залежності від сезону, стадії розвитку та інших факторів детекція хворих рослин може бути ускладнена. Нами показано,

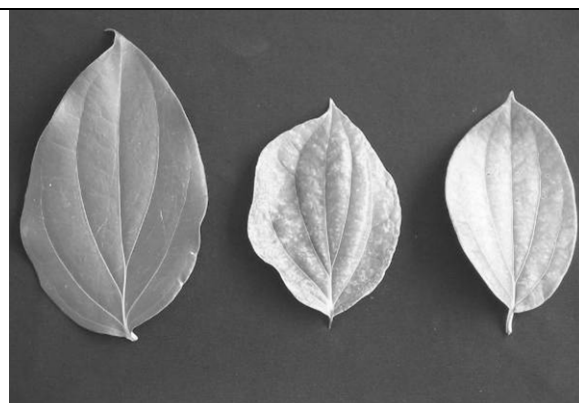
що в умовах Південного В'єтнаму рослини чорного перцю мали деякі специфічні симптоми вірусного ураження системного і локального характеру. Виявлені симптоми можна було об'єднати у три групи: деформації (скручення, гофрування листків, редукція верхівки листка), зміни забарвлення (жовта та кільцева плямистість, темно-зелена мозаїка) та відмірання тканин (некрози) (рис. 1. а, б).

Окрім симптомів на листках, при ураженні відбувалося зменшення кількості плодів або навіть їх повна редукція. Такі плоди були менші за розмірами, ніж плоди здорових рослин, часто світлішого кольору і зморшкуваті (рис. 1. в).

На основі даних візуальної діагностики встановлено, що ураження рослин на плантаціях Південного В'єтнаму коливається від 2 до 73% (від загальної кількості обстежених рослин) в залежності від сорту, технології вирощування, ґрунту та ін. При вивченні розповсюдження та спектру вірусоподібних симптомів на рослинах було встановлено, що найпоширенішими із них в обох провінціях були некрози та жовта плямистість, а в провінції Дог – Най – ще й гофрування листків. Протеу порівнянні з провінцією Дог – Най в провінції Ва Ріа-Вунг Тау загальний відсоток уражених рослин був меншим.



а



б



в

Рис. 1. Вірусоподібні симптоми на рослинах чорного перцю (*Piper nigrum* L.): а – гофрування листків, б – мозаїка, в – зменшення розміру та кількості плодів. Симптоми подані в порівнянні з контролем (ліворуч)

Оскільки масове розмноження чорного перцю проводиться, в основному, вегетативними методами, застосування ефективних діагностичних тестів дозволить уникнути розмноження рослин з латентною інфекцією. Окрім того, декілька збудників можуть бути асоційовані з однаковими симптомами на рослинах, що диктує необхідність точного визначення етіології за-

хворювань. Це завдання потребує поєднання декількох методів діагностики.

Візуальна діагностика супроводжувалася аналізом патогенів даних рослин з використанням імунохімічних та електронномікроскопічних методів.

За даними непрямого імуноферментного аналізу було визначено найбільш поширений вірусний агент рослин чорного перцю (*Piper nigrum* L.) на плантаціях

Південного В'єтнаму – вірус огіркової мозаїки. У провінції Ва Ріа- Вунг Тау цим вірусом було інфіковано до 30%, а в провінції Донг-Най – до 20% обстежених рослин. Подібні результати спостерігалися впродовж 3-х років (рис. 2.). У рослинних зразках з провінції Ва Ріа Вунг – Тау, на відміну від зразків з провінції Донг-

Най, виявляли ще антигени ВТМ. Проте, ураження ВТМ цих рослин не перевищувало 3%. Що стосується інших вірусних патогенів – УВК та ХВК – то їх антигени не були виявлені в жодному з протестованих зразків, хоча раніше антигени даних вірусів були нами ідентифіковані у рослинах чорного перцю [1].

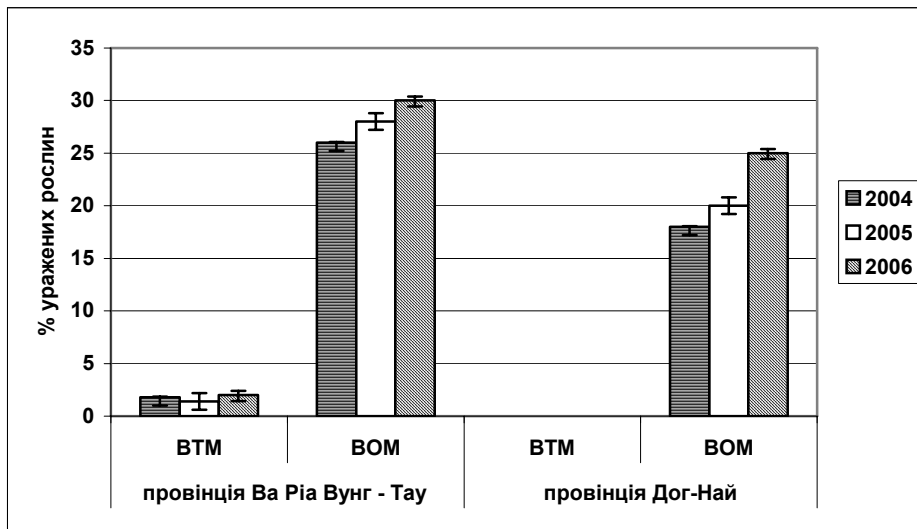


Рис. 2. Ураження рослин чорного перцю на плантаціях Південного В'єтнаму

У результаті електронномікроскопічних досліджень була показана наявність в досліджуваному матеріалі ізомеричних часток, діаметром 29 ± 2 нм. Така морфологія часток характерна для представників роду *Cuscutovirus* [7]. Окрім ізометричних часток, в деяких зразках виявлялися фрагменти паличкоподібних часток, діаметром близько 18 нм. Порівнюючи електронномікроскопічні дані з результатами ІФА, можна стверджувати, що рослини чорного перцю (*Piper nigrum* L.), які вирощуються на плантаціях основних аграрних районів Південного В'єтнаму, уражені BOM.

Отримані нами дані співпадають з даними літератури, відповідно до яких BOM реєструвався на плантаціях чорного перцю у країнах Південно-Східної Азії (Шрі Ланка, Індія, Філіпіни, Малазія, Таїланд, Індонезія) [4, 5, 9]. Проте в цих регіонах частіше виявлявся вірус жовтої плямистості перцю (ВЖПП) [3, 6, 8, 9], який нами не було ідентифіковано. Відсутність у зразках даного вірусу можна пояснити проведенням заходів боротьби зі шкідниками, зокрема борошністим червцем (*Ferrisia virgata*), на досліджуваних плантаціях Південного В'єтнаму, оскільки ця комаха та спорідені до неї види забезпечують ефективну передачу ВЖПП [3, 9].

Висновки. Проведене обстеження насаджень чорного перцю (*Piper nigrum* L.) основних сільсько-господарських провінцій Південного В'єтнаму. За допомогою імунохімічних та електронномікроскопічних мето-

дів встановлено, що найбільш розповсюдженим патогеном чорного перцю є вірус огіркової мозаїки. Показано, що в провінції Ва Ріа-Вунг Тау на плантаціях цим вірусом було інфіковано до 30%, а в провінції Донг-Най – до 20% рослин.

1. Бисов А.С. Віруси і вірусні хвороби рослин чорного перцю в умовах Південного В'єтнаму // Вісн. Київ. Націонал. У-ту. ім. Тараса Шевченка. Біологія. – 2001. – № 35. – С. 19–21.
2. Гнущова Р.В. Серологія и иммунохимия вирусных растений – Москва: Наука, 1993. – 301 с.
3. Bhat A.I., Devasahayam S., Sarma Y.R., Pant R.P. Association of badnavirus in black pepper (*Piper nigrum* L.) transmitted by mealbug (*Ferrisia virgata*) in India // Current Science. – 2003. – Vol. 84, N 25. – P. 1547–1550.
4. Bhat A.I., Hareesh P.S., Madhubala R. Sequencing of Coat Protein Gene of an isolate of Cucumber mosaic virus infecting Black Pepper (*Piper nigrum* L.) in India. // J. Plant Biochemistry & Biotechnology. – 2005. – Vol. 14. – P. 37–40.
5. Bhat A.I., Sarma Y.R., Sreenivasulu P., Pant R.P. Occurrence and identification of a Cucumber mosaic virus isolate infecting Indian long pepper (*Piper longum*) // Dill. Spice India. – 2005. – Vol. 18. – P. 42–44.
6. Lockhart B.E.L., Kiltisak K.A., Jones P., Eng L., Silva P., Olszewski N.E. Lockhart N. Identification of Pepper yellow mottle virus, a mealbug-transmitted badnavirus infecting *Piper* spp. In Southeast Asia // Eur. J. Plant Pathology. – 1997. – Vol. 103. – P. 301–311.
7. Palukaitis P., Rosins MJ., Dietzgen RG, Francki RI. Cucumber mosaic virus // Adv. Virus Res. – 1992. – Vol. 41. – P. 281–348.
8. Sarma Y.R., Kiranmai G., Sreenivasulu P., Anandaraj M., Hema M., Venkatramana M., Murthy A.K., Reddy D.V. Partial characterization and identification of a virus associated with stant disease of black pepper (*Piper nigrum* L.) In Sous India // Current Science. – 2001. – Vol. 80, N.3. – P. 459–462.
9. Silva D.P.P., Jones P., Shaw M.W. Identification and transmission of Piper yellow mottle virus and Cucumber mosaic virus infecting black pepper (*Piper nigrum*) in Sri Lanka // Plant Pathology. – 2002. – Vol. 51. – N 5. – P. 537–545.

Надійшла до редколегії 05.03.07

УДК 577.391:311

О. Кравченко, асп., Л. Гавриш, канд. біол. наук,
Ю. Степанов, канд. біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ Na^+ , K^+ -АТФАЗИ, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФАЗИ ТА 5'-НУКЛЕОТИДАЗИ В МЕМБРАННИХ ПРЕПАРАТАХ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ВИРАЗКОВОГО КОЛІТУ

Досліджено активність мембранозв'язаних ферментів в динаміці розвитку виразкового коліту. Встановлено підвищення активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази в плазматичних мембранах колоноцитів щурів при запаленні в товстій кишці. Зміни активності Na^+ , K^+ -АТФази мали різнонаправлений характер і статистично не відрізнялись від контролю.

The activities of membrane enzymes under inflammation bowel disease (colitis) were investigated. The Ca^{2+} , Mg^{2+} – ATPase and the 5'-nucleotidase activities increase in rat colonocytes membrane under colitis were determined. The statistical changes of Na^+ , K^+ ATPase activity during colitis development were not established.

Вступ. Виразковий коліт (ВК) – це хронічний запальний процес з дистрофічними та атрофічними деструктивними змінами слизової оболонки товстої кишки, що супроводжується порушеннями її секреторних і моторних функцій. До патогенезу вищезазначеного захворювання залучений цілий комплекс чинників, таких як психо-емоційний стрес, генетичні, імунні, біохімічні, порушення складу мікрофлори кишківника. Запальні процеси, які виникають при ВК характеризуються сукупністю біохімічних змін, в тому числі окисно-відновних процесів, і, в першу чергу, підвищенням інтенсивності процесів вільнорадикального окислення ліпідів (ВОЛ) на фоні зниження функціональних можливостей антиоксидантної системи. Активація процесів ВОЛ супроводжується тканинною гіпоксією внаслідок зниження регіонального кровотоку та мікроциркуляції. Продукти ВОЛ, що мають цитотоксичну та антимітотичну дію, уражують мембрани клітин кишківника, викликаючи зміни їх проникності та структурно-функціональної цілісності, що, в свою чергу, спричинює розвиток некрозів і виникнення виразок у товстій кишці. Деструкція плазматичних мембран клітин слизової оболонки кишківника призводить до порушень ліпідно-білкової складової (зміни вмісту фосфоліпідних компонентів та активності мембранозв'язаних ферментів, таких як Na^+ , K^+ -АТФаза, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза та 5'-нуклеотидаза) [1, 2, 3].

Метою роботи було визначити активність Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази в плазматичних мембранах клітин слизової оболонки товстої кишки щурів на різних етапах розвитку експериментального виразкового коліту.

Об'єкти й методи дослідження. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції.

Експерименти проводились на нелінійних білих щурах самцях масою 180–230 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. За добу до проведення дослідів щури мали доступ лише до води. Тварин розподіляли на групи: 1 – контрольна (10 шт.), 2, 3, 4 – групи, у яких моделювали виразковий коліт (по 10 щурів у групі). Модель експериментального виразкового коліту створювали за методичними рекомендаціями [6]. Щурів 2-ї групи декапітували через 24 год, 3-ї та 4-ї – через 3 і 6 діб, відповідно, після введення кислоти.

Клітини товстої кишки виділяли за допомогою осмотичного методу [9]. Отримані колоноцити піддавали гомогенізації в трис- HCl буфері ($\text{pH}=7,4$) у співвідношенні 1:5. Фракцію плазматичних мембран (102000 g) отримували на градієнті сахарози (26%) відповідно до рекомендацій [5]. В отриманих мембранах визначали активність Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази по кількості відщепленого фосфору за методами [2]. Активність ферментів виражали у мкмольх неорганічного фо-

сфору на мг білку за хвилину. Визначення концентрації білку здійснювали за методом Бредфорд.

Статистичну обробку результатів та побудову графіків проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Слизовій оболонці товстої кишки притаманна фізіологічна здатність до швидкого відновлення завдяки балансу між проліферацією і апоптозом клітин, а також після ушкодження. Дослідження морфофункціональних змін у процесі запалення та на ранніх етапах загоєння виразкових уражень є важливим напрямком для визначення динаміки відновлення слизової оболонки товстої кишки.

Згідно візуальних макроскопічних досліджень на 1-шу добу після ініціації виразкового коліту нами встановлено типові гострі ерозивно-запальні ушкодження слизової оболонки, що супроводжуються характерними симптомами коліту, до яких належить діарея та домішки крові у випорожненнях. На 3-ю добу процес виразкоутворення триває, однак намічається тенденція до зменшення патологічних проявів. Лише на 6-ту добу в зоні виразкового дефекту спостерігаються ознаки загоєння, а в деяких випадках і повного невелиювання запальних явищ на фоні зникнення патологічних симптомів.

Оскільки досліджувані маркерні ферменти є інтегральними білками, їх активність значною мірою залежить від стану оточуючого ліпідного матриксу. У зв'язку з цим велике значення для проведення експериментів має чистота, везикульованість та орієнтація виділених мембранних препаратів. Таким чином, вивчення активності Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази дозволить судити не лише про функціональний стан вищезазначених ферментів, а і про стан оточуючих їх мембранних компонентів.

5'-нуклеотидаза (5'-АМФаза, АМФ-фосфатаза) присутня у більшості клітинах ссавців і включає в себе групу споріднених ферментів, що каталізують гідролітичне дефосфорилювання у 5-ому положенні пентози нуклеозидфосфатів і дезоксинуклеозидфосфатів, та різняться за субстратною специфічністю, молекулярною вагою, локалізацією, кінетичними і регуляторними властивостями. Розрізняють мембранозв'язану та цитозольну форми 5'-АМФаз. Останні в невеликих кількостях присутні у мікросомах, мітохондріях, ядрах та лізосомах. 5'-нуклеотидаза – фосфогідролаза, що є специфічною для всієї молекули субстрату, на відміну від деяких інших фосфатаз, які виявляють свою специфічність лише щодо фосфатної групи. Слід зазначити, що активність ферменту повністю залежить від присутності іонів Mg^{2+} . Інтенсивно досліджується роль даного ферменту за різноманітних патологій. На сьогодні зміни активності ферменту використовуються як діагностичний та прогностичний тест при захворюваннях шлунка, печінки та жовчних шляхів [3]. Особливо цікавим є вивчення згаданих процесів у плазматичних мембранах клітин сли-

зової оболонки товстої кишки на різних етапах розвитку експериментального виразкового коліту.

Дослідження активності 5'-нуклеотидази виявили характерні однонаправлені зміни у функціонуванні зазначеного ферменту мембран колоноцитів при експериментальному виразковому коліті (див. таб.). На 1-у добу після ініціації запалення у товстій кишці спостерігається статистично достовірне зниження активності 5'-АМФази

на 26% від контролю. В наступні періоди спостереження виявлено поступове зростання активності досліджуваного ензиму. Так, на 3-ю добу активність 5'-нуклеотидази складає 86% від контролю, а на 6-ту – 90%. Різке зниження активності даного ферменту на початкових етапах гострого запалення кишечника, можливо, пов'язано зі зміною структури мембран, зокрема з порушенням взаємодії її білкових компонентів і фосфоліпідів.

Активність Na^+ , K^+ -АТФази, Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази в плазматичних мембранах клітин слизової оболонки товстої кишки за експериментального виразкового коліту

Група тварин	5'-нуклеотидаза мкмоль/мг хв	Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза мкмоль/мг хв	Na^+ , K^+ -АТФаза мкмоль/мг хв
контроль	280,2±22,6	51,6±2,2	1,113±0,121
1-ша доба коліту	206,6±31,5*	66,7±2,5*	0,947±0,117
3-тя доба коліту	242,1±24,7	65,4±2,7*	1,015±0,111
6-та доба коліту	251,4±27,7	64,1±3,6	0,929±0,085

* – різниця з контролем достовірна ($p < 0,05$)

Іонний склад клітин (допоки вони проявляють властивості живого) значною мірою відрізняється від іонного складу оточуючого середовища. Так, в цитоплазмі клітин концентрація іонів кальцію складає приблизно 50-100 нМ, тоді як в оточуючому середовищі міститься приблизно 3 мМ Ca^{2+} . Підтримує таку різницю концентрацій система активного транспорту іонів кальцію, головну роль в якій відіграє кальцієвий "насос" – фермент Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза. Цей фермент не є специфічним мембранним маркером, оскільки транспортування кальцію може здійснюватись і до внутрішньоклітинного депо – ендоплазматичного ретикулума. Підтримка низької концентрації іонів кальцію в цитоплазмі клітин забезпечує можливість регуляції клітинних функцій шляхом збільшення проникності клітинних мембран для Ca^{2+} : потрапляючи до клітини ці іони активують велику кількість різноманітних клітинних реакцій (скорочення та активацію сигнальних каскадів) [4]. Слід відмітити, що іонна асиметрія, сформована на мембрані, є вкрай необхідною для забезпечення клітинного метаболізму. Це головним чином стосується клітин товстого кишечника, основною фізіологічною функцією яких є реабсорбція води, деяких іонів, глюкози та коротколанцюгових жирних кислот. Таким чином, забезпечуючи виведення надлишку іонів кальцію з клітини Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФаза тим самим підтримує його концентрацію на фізіологічному рівні і забезпечує перебіг нормальних метаболічних процесів та функцій клітин.

Дослідження активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази за умов розвитку виразкового коліту також виявили характерні зміни у функціонуванні зазначеного ферменту мембран колоноцитів. Так, на першу добу після моделювання виразкового коліту спостерігається статистично достовірне підвищення активності досліджуваного ензиму на 30%, а на 3-тю – 6-ту добу відмічено незначне зниження його активності. Не дивлячись на те, що в більшості випадків у кінцевий період спостереження розвитку патології візуальних ушкоджень слизової оболонки практично не виявлено, активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази перевищує контроль на 24%. Установлені факти можуть бути пов'язані із порушеннями кальцієвого гомеостазу і, можливо, з початком апоптичних або некротичних змін у клітинах слизової оболонки товстої кишки.

Na^+ , K^+ -АТФаза – трансмембранний білок плазматичних мембран, котрий здійснює перенос іонів Na^+ і K^+ через мембрану проти електрохімічного градієнту, забезпечуючи таким чином рушійну силу для різноманітних Na^+ і K^+ -залежних транспортних систем. Асиметричний розподіл одновалентних катіонів є необхідним не лише для формування мембранного потенціалу клітини, а і для транспорту метаболітів через клітинну мем-

брану, що є однією з основних функцій колоноцитів, та для регуляції внутрішньоклітинних реакцій обміну речовин. Завдяки своїй фундаментальній ролі у клітинному метаболізмі, активність Na^+ , K^+ -АТФази регулюється за допомогою досить складних механізмів, які найчастіше реалізуються за допомогою білок-білкових взаємодій, крім цього чималу роль у функціонуванні даного ферменту відіграє й ліпідне оточення [1].

За умов досліджуваної патології статистично достовірних змін активності Na^+ , K^+ -АТФази виявити не вдалося (див. таб.). Ці дані дають підстави передбачити, що функціонування регуляторних механізмів справляє компенсаторний вплив на зміни активності Na^+ , K^+ -АТФази, викликані запальними процесами у слизовій оболонці товстої кишки. Слід також відмітити, що Na^+ і K^+ разом із Cl^- та HCO_3^- є основними осмотично активними іонами, які забезпечують нормальний метаболізм та фізіологічне функціонування колоноцитів [8]. Відтак, забезпечення сталої активності ферментів, які залучені до транспорту вищезазначених іонів є життєвоважливою функцією для клітин даного типу.

Висновки. Результати експериментальних досліджень дозволяють зробити висновок, що розвиток та ремісія виразкового коліту супроводжуються змінами активності маркерних мембранних ферментів (Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази та 5'-нуклеотидази). Це дає підстави передбачити, що за умов запалення відбуваються зміни структурно-функціонального стану ферментів, які супроводжуються реорганізацією оточуючого їх мембранного матриксу клітин слизової оболонки товстої кишки, що в подальшому може призвести до модифікації транспортних і внутрішньоклітинних регуляторних систем.

1. Болдырев А.А. Na^+ / K^+ -АТФаза – свойства и биологическая роль // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 4. – С. 2–9.
2. Древал В.И., Финаин А.В., Баранин Е.А. // Укр. биохим. журн. – 1989. – Т. 61, № 2. 3. Ковальова В.А., Гаєриш Л.І., Скопенко О.В., Остапченко Л.І. Дослідження активності 5'-нуклеотидази та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази в мембранних препаратах клітин слизової оболонки шлунка за умов експериментальної моделі виразки // Вісник Київського національного університету ім. Тараса Шевченка, серія Біологія. – 2004. – № 42–43. – С. 57–58. 4. Ткачук В.А. Мембранные рецепторы и внутриклеточный кальций // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7. – №1. – С. 10–153. 5. Рибальченко В.К., Коганов М. М. Структура и функции мембран. Практикум // Изд-во "Вища школа", 1988. 6. Fabia R., Willen R., ArRajab A. et al. Acetic acid-induced colitis in the rat: a reproducible experimental model for acute ulcerative colitis // Eur Surg Res. – 1992. – Vol. 24. – № 24. – P. 211–225. 7. Farrell R., Pappertory M. Ulcerative colitis // Lancet. – 2002. – Vol. 359. – № 5. – P. 97–110. 8. Kunzelmann K. and Mall M. Electrolyte Transport in the Mammalian Colon: Mechanisms and Implications for Disease // Physiological Reviews. – 2002. – Vol. 82. – No. 1. – P. 245–289. 9. Roediger W.E.W., Truelove S.C. Methods of preparing isolated colonic epithelial cells (colonocytes) for metabolic studies // Gut. – 1979. – Vol. 20. – P. 484–488.

Надійшла до редколегії 25.12.06

УДК 577.115.617

Л. Гайда, асп., О. Карпюк, студ.,
М. Тимошенко, студ., Л. Остапченко, д-р біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗИ В ЦИТОЗОЛІ ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИН ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

Досліджено активність глутатіон-S-трансферази в парієтальних клітинах щурів в динаміці розвитку атрофічного гастриту. На четвертому тижні розвитку атрофічного гастриту виявлено статистично достовірне збільшення активності ферменту на 69,6%. У віддалені терміни розвитку експериментальної моделі активність вказаного ферменту знижувалась і на кінцевому етапі становила на 37,6% менше від контрольного значення.

Activity of glutathione-S-transferase in rat parietal cells during development of chronic atrophic gastritis was investigated. On the fourth week of disease development we observed statistically significant increasing of fermental activity on 69,6%. During later period of disease glutathione-S-transferase activity decreased and on final stages it was lower on 37,6% comparing with control level.

Вступ. На сьогодні атрофічний гастрит розглядають переважно як "хронічний запально-дистрофічний процес у слизовій оболонці шлунка, який характеризується порушенням її фізіологічної регенерації, зменшенням кількості залозистих клітин, а у разі прогресування – атрофією залозистого епітелію, розладом секреторної, моторної та інкреторної функцій шлунка" [1]. Одним із механізмів розвитку атрофії слизової оболонки шлунка є порушення процесів проліферації та апоптозу, які можуть бути індуковані різноманітними чинниками (ірадіацією Н.рylori, дією етанолу, саліцилату та ін.). Ці процеси призводять до міграції поліморфноядерних лейкоцитів і макрофагів до поверхневого шару слизової шлунка і супроводжуються "окисативним вибухом": вивільненням і утворенням цілого спектру вільнорадикальних сполук [2]. Накопичення токсичних продуктів призводить до пошкодження мембран, інактивації ферментів, порушення проліферації клітин [3].

Глутатіонова антипероксидна система ферментів, яка включає глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу, перешкоджає перекисному окисленню ліпідів і захищає клітинні мембрани від пошкоджень продуктами перекислення. Крім того, ця система відіграє важливу роль в детоксикації, деградації та виведенні із організму чужерідних органічних сполук. Ця функція реалізовується через роботу глутатіон-S-трансферази (ГТ). На сьогодні, експериментальними та клінічними дослідженнями встановлено, що система глутатіону бере також участь в процесах регуляції проліферації [6], які залучені в патогенез хронічного атрофічного гастриту.

Метою нашої роботи було дослідження активності глутатіон-S-трансферази парієтальних клітин щурів в динаміці розвитку експериментального атрофічного гастриту.

Об'єкт і матеріали досліджень. У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно Європейської конвенції. В досліді використовували білих лабораторних нелінійних щурів-самців з початковою масою 180-220 г. Групи тварин, протягом 6 тижнів вводили 2% саліцилат натрію (2 мл інтрагастрально), а питну воду заміняли на 20 мМ деоксихолат натрію. Піддослідні тварини були розділені на 7 груп: 1 – контрольна, яка утримувалась на стандартному раціоні віварію; 2–7 – тварини з відповідними термінами розвитку атрофічного гастриту. Щурів, яких відсаджували на голод протягом 18 год, брали на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й і 6-й тиждень проведення експерименту [9].

Розвиток атрофічного гастриту підтверджували гістологічними дослідженнями. Відбирали зразки кардіальної, фундальної та пілоричної частин шлунку, які об-

робляли за стандартними методами. Зразки забарвлювали гематоксиліном та еозином. Парієтальні клітини виділяли за описаною методикою (ферментативне відщеплення клітин слизової з наступним ультрацентрифугуванням на сахарозо-фікольному градієнті) [7].

Визначення активності глутатіон-S-трансферази (ГТ) проводили в супернатанті і оцінювали за швидкістю утворення кон'югату з 1-хлор-2,4-динітробензолом (ХДНБ), який характеризується максимумом поглинання при 340 нм [8]. Активність ферменту перераховували на мг білка, вміст якого в дослідних зразках визначали за методом Бредфорд. Результати статистично обробляли за t-критерієм Стюдента.

Результати та їх обговорення. При введенні саліцилату натрію (інгібітора простогландинциклогенази) у щурів спостерігалось ураження слизової шлунку, яке посилювалось деоксихолатом натрію. Останній, розчиняючи захисний поверхневий шар слизу, стимулював рефлекс жовчі із дванадцятипалої кишки [9].

В результаті гістологічних досліджень на початкових етапах розвитку ХАГ (2-3 тижні) спостерігалось потовщення слизової оболонки на 10–15%, що можна пояснити гіперпроліферацією стовбурових клітин у відповідь на дію пошкоджуючих агентів [1]. На 5-6 тиждень експериментальної моделі товщина слизової зменшувалась в порівнянні з контролем. На кінцевих етапах ХАГ спостерігалось часткове розкладання макроскопічних складок шлунку. Залози розташовувались невпорядковано, їхня кількість зменшилась в порівнянні з контролем ($P > 0,05$). Починаючи з 4-го тижня спостерігалось проростання сполучної тканини в основу залоз, а також лімфатична інфільтрація, що є стійкою ознакою хронічного атрофічного гастриту [1, 3].

Досліди показали, що за умови розвитку експериментального атрофічного гастриту активність глутатіон-S-трансферази змінювалась різнонаправлено, в залежності від етапу експериментальної моделі. Згідно з даними, представленими на рис. 1, спостерігалось зниження активності глутатіонтрансферази на 24,8% після першого тижня експериментального атрофічного гастриту в порівнянні з контролем. На 2-й та 3-й тиждень відмічено підвищення активності глутатіонтрансферази порівняно з першим тижнем, але значення не перевищували контрольного рівня. На четвертому тижні розвитку атрофічного гастриту спостерігається статистично достовірне збільшення активності глутатіонтрансферази на 69,6%. У віддалені терміни розвитку експериментальної моделі активність вказаного ферменту знижувалась і на кінцевому етапі становила на 37,6% менше від контрольного значення.

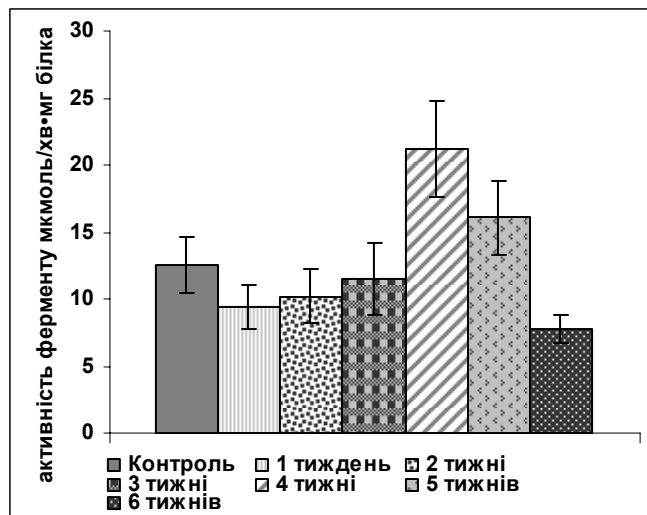


Рис 1. Активність глутатіон-S-трансферази в цитозолі парієтальних клітин слизової оболонки шлунку в динаміці розвитку експериментального атрофічного гастриту

Глутатіон-S-трансферази каталізують необоротний процес кон'югації відновленого глутатіону з електрофільними чужерідними сполуками. Цей процес являється початковою стадією біосинтезу меркаптурових кислот – продуктів деградації глутатіонового кон'югату [4]. Глутатіонові кон'югати – це сильні алкілятори, які пошкоджують ДНК, а також порушують гомеостаз Ca^{2+} у клітині. Глутатіонтрансферази захищають життєво важливі центри клітини від пошкодження і в результаті вагомо збільшують стійкість клітин і всього організму [5].

Зниження активності ферменту на ранніх стадіях може свідчити про участь у цитопротекції інших ферментативних систем, які забезпечують антиоксидантний захист. В такому випадку подальшу активацію глутатіон-S-трансферази можна розглядати як компенсаторну реакцію в умовах пригнічення активності ферментів вищезазначених систем – глутатіонпероксидази та каталази, так як глутатіонтрансфераза здатна також використовувати в якості акцептора органічні пероксиди. Ріст активності глутатіонтрансферази може бути викликаний підвищеною концентрацією продуктів перекисного окислення ліпідів, накопиченням великої кількості ендогенних та екзогенних токсичних речовин, які є наслідком запального процесу. Причиною зниження активності глутатіон-S-трансферази на пізніх етапах може бути наслідком виснаження антиоксидантної системи, спричинене хронізацією патологічного процесу.

Висновки. Таким чином, аналіз представленого матеріалу дозволив виявити особливості змін активності глутатіон-S-трансферази, які направлені на підтримання компенсаторно-адаптивних реакцій в організмі в умовах розвитку експериментального атрофічного гастриту. На підставі отриманих даних актуальним стає всебічне дослідження стану глутатіонової антиоксидантної системи та систем, які з нею пов'язані.

1. Аруин А.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Е.П. Хронический гастрит. – Амстердам, 1993.
2. Бабак О.Я., Протас Ю.В. Хронический атрофический гастрит – точка отсчета начала канцерогенеза // Суч. гастроентерол. – 2005. – № 5(25). – С. 9–14.
3. Букин Ю.В., Драудин-Криленко В.А. Молекулярно-биологические механизмы гастроканцерогенеза и подходы к профилактике рака желудка // Успехи биол. химии. – 2000. – т. 40. – С. 329–356.
4. Кахнов Н.Б., Хмелевский Ю.В. Глутатіон-S-трансферазы, ферменты детоксикации. – Укр. Биохим. Журнал, 1983. – т. 55. – № 1.
5. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатіон-S-трансферазы. – Успехи современной биологии. – 1989. – т. 107. – № 2. – С. 179–194.
6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатіона // Успехи современной биологии. – 1990. – т. 110. – № 1. – С. 20–26.
7. Таиров М.М., Берсумбаев Р.И., Ареутинская С.В., Салгани Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаза, стимулируемых гистамином и простагландином E_2 , в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции // Биохимия. – 1983. – т. 48. – № 6. – С. 1035–1041.
8. Habig W.H., Parst M.J., Jakoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249. – № 22. – P. 7130–7139.
9. Wang Liang-jing, Chen Shu-jie, Chen Zhe, Cai Jian-ting, Si Jian-min. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats // J. Zhejiang Univ SCIENCE B. – 2006. – № 7(8). – P. 634–640.

Надійшла до редколегії 10.11.06

УДК 577.125.6

Я. Максимович, асп., О. Дробінська, канд. біол. наук,
Ю. Гавриленко, студ.

ОКСИД АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ ВИРАЗКИ ШЛУНКУ

*Розглянуто і проаналізовано дані літератури про участь оксиду азоту в процесах патогенезу виразки шлунку.
The literature data about the role of nitric oxide in processes of gastric ulcer pathogenesis were considered and analyzed.*

Одним із найбільш яскравих відкриттів останнього десятиліття, що мають фундаментальне значення і дозволили по-новому підійти до розуміння молекулярних механізмів ряду фізіологічних процесів у клітині, є відкриття оксиду азоту (NO) як поліфункціонального фізіологічного регулятора [1, 6]. На сьогодні NO розглядається як перший представник нового класу сигнальних молекул, що здійснює міжклітинну комунікацію і регуляцію багатьох біохімічних процесів у різних тканинах і системах організму [4], зокрема відіграє винятково важ-

ливу роль у підтриманні нормального функціонування травної системи. Показано, що оксид азоту впливає на секрецію слизу [7], соляної кислоти та бікарбонатів [4] клітинами слизової оболонки шлунку, інсуліну – підшлунковою залозою [12], приймає участь у регуляції моторики стравоходу, шлунку та кишечника, а також забезпечує належне кровопостачання цих органів [4, 20].

Оксид азоту в організмі головним чином синтезується за участю ферменту синтази оксиду азоту (NOS) за наявності NADPH, FAD, FMN, тетрагідробіоптерину, каль-

© Максимович Я., Дробінська О., Гавриленко Ю., 2007

модуліну та іонів Ca^{2+} [2]. Розрізняють три типи (ізоформи) ферменту, які зазвичай позначають як тип 1 – нейрональна (nNOS), тип 2 – макрофагальна (iNOS, або mNOS) і тип 3 – ендотеліальна (eNOS). Нейрональну та ендотеліальну ізоформи відносять до конститутивних, оскільки вони експресуються в клітині постійно, тоді як макрофагальна є індукційною і для її активації потрібно декілька годин та дія таких факторів, як ендотоксини, цитокіни, бактеріальні ліпополісахариди тощо [4]. Конститутивні nNOS та eNOS є Ca^{2+} – залежними ферментами і навіть при активації продукують невелику кількість NO в межах декількох мМоль/л, активація ж iNOS не залежить від концентрації іонів кальцію і спричинює підвищення рівня NO у сотні разів [2]. Варто зазначити, що оксид азоту може утворюватись і неферментативним шляхом – наприклад, за рахунку відновлення нітритів та нітратів у крові за участі оксигемоглобіну [5].

Останнім часом багато уваги приділяють вивченню ролі NO в процесах виразкоутворення і гастропротекції. Показано, що оксид азоту є важливим фізіологічним медіатором, який підтримує цілісність слизової оболонки [4]. Встановлено, що застосування донорів NO, а саме нітриту натрію та нітроприсиду натрію, пригнічує формування пошкоджень слизової оболонки шлунку, викликаних пероральним введенням соляної кислоти [18], а тринітрат гліцерину прискорює загоєння виразок, спричинених оцтовою кислотою [11]. Пероральне введення субстрату NOS L-аргініну має такий самий ефект, причому збільшення дози скорочує терміни відновлення слизової оболонки шлунка. Таке прискорення супроводжується значним посиленням кровопостачання слизової навколо виразок, а також ангіогенезом в грануляційній тканині дна виразки. Протилежний ефект мають інгібітори NO-синтази, зокрема N^G -нітро-L-аргінін та N^G -мометил-L-аргінін, при застосуванні яких значно збільшуються розміри виразок, затримується їх загоєння внаслідок зменшення кровопостачання слизової оболонки шлунка та послаблення процесу ангіогенезу [11]. Варто також зазначити, що застосування L-аргініну знімає негативний вплив інгібіторів NOS на процеси регенерації тканин. Крім того, було встановлено, що саме оксид азоту опосередковує гастропротекторні ефекти гастрину, морфіну та нестероїдних проти-запальних препаратів. Очевидно, що один з важливих механізмів дії цих препаратів – покращення кровопостачання шлунку через продукування NO [4].

Однак великі кількості оксиду азоту можуть призводити до пошкодження слизової оболонки шлунку. Показано, що використання екзогенного донору оксиду азоту нітроприсиду натрію у великих дозах призводить до виникнення геморагічних пошкоджень шлунку. Цитотоксичні властивості NO можуть проявлятися при його взаємодії із супероксидним радикалом, внаслідок чого формуються такі високоактивні окисники, як пероксинітрит (ONOO^-) та гідроксильний радикал [13]. Пероксинітрит бере участь у багатьох хімічних реакціях в біологічних системах, у тому числі в нітруванні залишків тирозину в білках, ініціації перекисного окислення ліпідів, окисненні біологічних тіолів. Він інгібує аконітазу та транспорт електронів у мітохондріях, порушуючи таким чином процеси енергетичного обміну в клітині, спричинює різні пошкодження ДНК, зокрема розриви її ланцюгів. Перераховані реакції за участю ONOO^- викликають такі серйозні біологічні наслідки, як апоптоз та різні клітинні мутації. Крім того, активуючи циклооксигеназу, ключовий фермент синтезу простагландинів, пероксинітрит провокує розвиток запалення [3]. Застосування супероксиддисмутази та речовин, які знешкоджують пе-

роксинітрит та гідроксильний радикал, відновлювало уражену слизову оболонку [13].

Останнім часом багато досліджень спрямовано на встановлення ролі кожної з ізоформ NOS у виникненні, розвитку та загоєнні виразок шлунку. Деякі автори вважають, що індукційна форма NOS може сприяти виразкоутворенню, адже вона активно функціонує лише за умов як гострого, так і хронічного запального процесу, тоді як в нормі її експресію не виявлено. NO, що продукується цією ізоформою ферменту із клітин запалення, має антибактеріальну, протипухлинну та цитотоксичну дію, але його надмірна кількість призводить до формування пероксинітриту, продукції гідроксильних радикалів та інших пошкоджуючих агентів. Надмірна експресія iNOS спостерігалася на 1-й та 2-й день після індукування оцтовою кислотою виразки у щурів і супроводжувалася збільшенням площі виразкового ураження. Це може пояснюватися активністю клітин, які приймають участь у запальному процесі. Після початку процесу загоєння відмічено зменшення рівня експресії даного білка [10]. У випадку гастриту та виразок, викликаних мікроорганізмом *Helicobacter pylori*, також було відмічено зростання рівня NO, який продукується клітинами запалення, яким притаманна висока активність iNOS. Постійний високий рівень експресії індукційної ізоформи ферменту може призводити до значних пошкоджень клітин шлункової стінки, що значно збільшує ризик розвитку онкологічних захворювань [3,10].

Однак результати інших досліджень свідчать про те, що NO, синтезований iNOS, також може відігравати сприятливу роль під час загоєння виразки, регулюючи процеси запалення через індукцію апоптозу в нейтрофілах та мононуклеарних клітинах, які мігрували в зону пошкоджених тканин. Крім того, підвищення рівня оксиду азоту внаслідок високої активності індукційної ізоформи ферменту може призводити до формування некротичних зон, де пошкоджена слизова відділяється в просвіт шлунку. Даний процес відіграє позитивну роль у загоєнні виразки, оскільки желеподібний шар, що вкриває дно виразки і складається з фібринового гелю, некротизованих клітин і клітин слизової, захищає дно виразки, попереджаючи його прямий контакт з вмістом шлунку – соляною кислотою, пепсином та їжею. Це підтверджується дослідженнями на мишах, дефектних по гену iNOS, у яких пошкодження, спричинені оцтовою кислотою, були більші, а запалення навколо виразки – гострішим [17].

Після дії стрес-факторів на піддослідних тварин спостерігається дещо інша картина. Внаслідок звуження судин слизової оболонки шлунку і зменшення кровопостачання органу, може інгібуватися активність iNOS, що призводить до зниження рівня оксиду азоту. До того ж, ерозії та кровотечі в слизовій оболонці шлунку, викликані стресом, можуть інактивувати синтезований оксид азоту шляхом зв'язування його з оксигемоглобіном. Зменшення рівня NO разом з послабленням захисної функції слизової оболонки і вазодилатацією загострює ерозії та спричинює формування виразки [14]. Судиннорозширююча дія оксиду азоту пов'язана з активацією розчинної гуанілатциклази по гемзалежному механізму і накопиченням циклічного гуанідинмонофосфат (cGMP). cGMP, що накопичується, активує cGMP-залежну протеїнкіназу, а також Ca^{2+} -АТФазу, яка в свою чергу бере участь у дефосфорилуванні легких ланцюгів міозину, що призводить до виходу Ca^{2+} з м'язових клітин і кінець-кінцем – до вазодилатації [6].

За деякими даними, NO, синтезований ендотеліальною формою NOS, відіграє важливу роль у процесі загоєння виразки шлунку, оскільки саме він стимулює процес ангіогенезу, пригнічуючи активність протеїнкіна-

зи С та змінюючи експресію молекул адгезії на ендотеліальних клітинах [15]. Внаслідок інгібування активності eNOS ніотином, який накопичується у шлунковому соку шурів, зменшується кількість слизу, який продукується епітеліальними клітинами, та погіршується кровопостачання шлунку, що має негативний вплив на слизову оболонку. Тривале використання донорів NO має сприятливі наслідки для тварин, які зазнавали впливу нікотину, оскільки відбувається відновлення цілісності слизової оболонки шлунку та збільшення секреції слизу [16].

При етанольних ураженнях шлунку NO опосередковує гіперемію, що послаблює пошкодження слизової оболонки. У відповідності до цих висновків, пригнічення синтезу NO посилює етанолові пошкодження шлунку і послаблює гастропротекторну дію простагландину E_2 та капсаїцину. Даний ефект є цілком зрозумілим, якщо врахувати, що покращення кровопостачання – одна з ключових ланок в гастропротекції, а оксид азоту, відіграє ключову роль в механізмах вазодилатації, викликаній етанолом. Окрім того, NO опосередковує вазодилатацію, яка викликана простагландином E_2 , а також субстанцією Р та кальцитонін-генеродинного пептиду, які вивільняються при дії капсаїцину. Виключення такої важливої "кровопостачальної" ланки, зрозуміло, посилює пошкодження слизової оболонки, послаблює гастропротекторну дію речовин, ефект яких суттєво визначається здатністю збільшувати кровопостачання через вивільнення NO [4].

Однак є відомості, що попереднє введення великої кількості L-аргініну посилювало етанольні ушкодження слизової оболонки шлунку шурів. Таке явище було назване "парадоксальним ефектом" [4]. Вважається, що цей ефект частково викликається NO (оскільки він послаблювався застосуванням L-NAME), а частково не залежить (оскільки повністю не зникав при використанні того ж інгібітору). Хоча можна поставити під сумнів роль зміни шлункового кровотоку в спостережуваному феномені, все ж слід мати на увазі, що етанол викликає вазодилатацію у слизовій оболонці через активацію синтезу NO, і застосування субстрату NO може не тільки не збільшувати кровопостачання шлунку (є межа вазодилатації), але, навпаки, зменшувати його за рахунок системної гіпотензії. Крім того, відома пригнічувальна дія NO на циклооксигеназу. Тому усунення простагландинової ланки гастропротекції при застосуванні NO може бути ще одним поясненням цих даних. Незважаючи на здатність NO пригнічувати циклооксигеназу, є переконливі докази взаємодії простагландинів та NO у підтримці цілісності слизової оболонки шлунку [19].

Отже, достатньо доведена важлива роль ендогенно синтезованого NO у процесах гастропротекції при різних типах ушкоджень слизової оболонки. Очевидно, основним механізмом при цьому є висока здатність NO посилювати кровопостачання ушкоджених тканин та сприяти процесам ангіогенезу. Доцільність застосування донорів NO з метою гастропротекції потребує експериментального підтвердження. Теоретично це може виявитися корисним при недостатньому кровопостачанні слизової оболонки шлунку чи гіпофункції системи NOS, оскільки відомо, що NO в значній мірі забез-

печує підтримку адекватного кровопостачання тканин, так як розслаблює артеріоли, протидіє симпатичному адренергічному вазоконстриктивному впливові та посилює дію інших вазоактивних речовин. Однак слід мати на увазі, що при пошкодженні слизової оболонки шлунку NO може бути агресивним фактором і, наприклад, посилювати цитотоксичність пероксиду водню.

Наведені вище дані досить переконливо демонструють вирішальну роль оксиду азоту в процесах виразкоутворення. У цілому ця область дослідження є досить цікавою та перспективною і здатна забезпечити в найближчому майбутньому прогрес в практичній медицині.

1. Башкатова В.Г., Раевский К.С. Оксид азота в механизмах повреждения мозга, обусловленных нейротоксическим действием глутамата // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 1020–1028.
2. Горен А.К.Ф., Майер Б. Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 870–880.
3. Маеда Х., Акаке Т. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 1007–1019.
4. Поленов С.А. Окись азота в регуляции функций желудочно-кишечного тракта // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 1998. – Т. 8. – № 1. – С. 53–60.
5. Рейтов В.П., Сорокина Е.Г. NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 1029–1040.
6. Северина И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 939–947.
7. Brown J.F., Keates A.C., Hanson P.J., Whittle B.J. Nitric oxide generators and cGMP stimulate mucus secretion by rat gastric mucosal cells // Am J Physiol. – 1993. – V. 265. – P. 418–422.
8. Brzozowski T., Konturek S.J., Drozdzowicz D., Dembinski A., Stachura J. Healing of chronic gastric ulcerations by L-arginine. Role of nitric oxide, prostaglandins, gastrin and polyamines // Digestion. – 1995. – V. 56. – P. 463–471.
9. Ferraz J.G., Tigley A., Wallace J.L. Paradoxical effects of L-arginine on gastric mucosal integrity // Eur J Pharmacol. – 1994. – V. 21. – P. 107–111.
10. Guo J.S., Cho C.H., Wang W.P., Shen X.Z., Cheng C.L., Koo M.W.L. Expression and activities of three inducible enzymes in the healing of gastric ulcers in rats // World J Gastroenterol. – 2003. – V. 9. – P. 1767–1771.
11. Konturek S.J., Brzozowski T., Majka J., Pytko-Polaczek J., Stachura J. Inhibition of nitric oxide synthase delays healing of chronic gastric ulcers // Eur. J. Pharmacol. – 1993. – V. 239. – P. 215–217.
12. Lajoix A.D., Badiou S., Peraldi-Roux S., Charde's T., Dietz S., Aknin C., Tribillac F., Petit P., Gross R. Protein Inhibitor of Neuronal Nitric Oxide Synthase (PIN) is a New Regulator of Glucose-Induced Insulin Secretion // Diabetes. – 2006. – V. 55. – P. 3279–3288.
13. Lamarque D., Whittle B.J.R. Role of oxygen-derived metabolites in the rat gastric mucosal injury induced by nitric oxide donors // European Journal of Pharmacology. – 1995. – V. 277. – P. 187–194.
14. Liu G.S., Huang Y.X., Li S.W., Pan B.R., Wang X., Sun D.Y., Wang Q.L. Experimental study on mechanism and protection of stress ulcer produced by explosive noise // World J. Gastroenterology. – 1998. – V. 4. – № 6. – P. 519–523.
15. Ma L., Wallace J.L. Endothelial nitric oxide synthase modulates gastric ulcer healing in rats // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2005. – V. 279. – P. 341–346.
16. Qui B.S., Mei Q.B., Liu L., Tchou-Wong K.M. Effects of nitric oxide on gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress // World J Gastroenterol. – 2004. – V. 10. – P. 594–597.
17. Tatemichi M., Ogura T., Sakurazawa N., Nagata H., Sugita M., Esumi H. Roles of inducible nitric oxide synthase in the development and healing of experimentally induced gastric ulcers // Int. J. Exp. Path. – 2003. – V. 84. – P. 213–220.
18. Uchida M., Matsueda K., Shoda R., Muraoka A., Yamato S. Nitric Oxide Donating Compounds Inhibit HCl-Induced gastric Mucosal Lesion Mainly via Prostaglandin // Jpn. J. Pharmacol. – 2001. – V. 85. – P. 133–138.
19. Wallace J.L., Tigley A.W. Review article: new insights into prostaglandins and mucosal defence // Aliment Pharmacol. Ther. – 1995. – V. 9. – № 3. – P. 227–235.
20. Willis S., Allescher H.D., Stoschus B., Schusdziaza V., Classen M., Schumpelick V. Double blind placebo controlled study on the effect of the nitric oxide donor molsidomin and the 5-HT3 antagonist ondansetron on human esophageal motility // Z.Gastroenterol. – 1994. – V. 32. – P. 632–636.

Надійшла до редколегії 28.02.07

УДК 591. 543. 43

С. Лопарьов, канд. біол. наук, Є. Яніш, асп.

ЩІЛЬНІСТЬ ПОПУЛЯЦІЙ ВОРОНОВИХ ПТАХІВ (CORVIDAE L.) НА ТЕРИТОРІЇ ПОДІЛЛЯ З 1970 ПО 2006 РР

Проаналізовані багаторічні дані чисельності гніздових колоній грака (*Corvus frugilegus*, L.) та щільності популяцій воронових птахів у Вінницькій області та прилеглих територій. В ході досліджень простежена динаміка цих показників та виявлений сучасний стан популяцій представників родини Corvidae.

Data on numbers of rook (*Corvus frugilegus*, L.) in nest rookeries and population densities of corvid birds in Vinnytsia oblast and adjacent areas are analyzed. In the course of investigations dynamics of these indices is traced and current state of corvid species populations is revealed.

Вступ. Під впливом інтенсифікації господарської діяльності, швидкого збільшення урбанізованих територій, за останні півстоліття значно розширилися та посилюються контакти та конфлікти птахів з людиною та технікою. Серед птахів найкраще адаптувались до антропогенного середовища представники родини Corvidae, яка на території України представлена сімю видами: крук (*Corvus corax*, L.), сіра ворона (*Corvus cornix*, L.), грак, галка (*Corvus monedula*, L.), сорока (*Pica pica*, L.), сойка (*Garrulus glandarius*, L.) та горіхівка (*Nucifraga caryocatactes*, L.).

Найбільш масовий вид в Україні – грак. Це звичайний на гніздуванні і зимівлі вид. Граки тримаються зграями, гніздяться колоніями чисельністю від кількох гнізд до декількох сотень гнізд в кожній [1]. Як і всі воронові, граки всеїдні птахи, й у період вигодовування пташенят їх раціон на 90% складається з комах (хрущі та їх личинки тощо) [2], часто годуються на полях та звалищах. В інші періоди до половини і більше раціону складає рослинна їжа, зокрема падалиця культурних злаків. Галка – вид у нас звичайний, але поступається чисельністю грака, і часто утворює під час зимівлі спільні з ним зимівлі і іноді колонії. Сіра ворона – типовий синантропний вид, майже осілий, але на Поділлі, зокрема Вінничині, нечисленний. Крук – птах осілий, нечисленний, хоча й останніми роками суттєво збільшує чисельність [3]. Сорока – також звичайний, але гніздових колоній, як і крук, не утворює. Сойка – звичайний птах, осілий скрізь крім степу, але на відміну від інших воронових, майже виключно лісовий. Горіхівка представлена осілою популяцією Карпат, а на іншій території нерегулярно інвазійна.

В зв'язку зі своєю чисельністю, розповсюдженістю та всеїдністю, а відчасти і хижацтвом, найбільше значення для людини мають зграйні воронові – грак, галка та сіра ворона. І саме вони щільно і рівномірно заселяють аграрні і селітебні ландшафти.

Матеріал та методика. Матеріали були зібрані на території Вінницької області і сусідніх районів протягом періоду з 1970 по 2006 рр. маршрутним та картографічним методами [4]. Маршрутами охоплено понад 1,4 тис. кілометрів. Але ці обліки в основному використовувались для оцінки стану незграйних і лісових видів. Загальна площа моніторингових ділянок агроценозів і населених пунктів дорівнює 552 км² і складається з трьох облікових ділянок. Перша з них включає переважно міські площі і прилеглі населені пункти. Це власне м. Вінниця та її найближчі передмістя, до населених пунктів Десна, Тяжлів, Щитки (не включаючи), Майдан-Чапельський, Сабарів та Пирогово (до 180 км²). Друга площа – типові агроценози, частково на розчленованому ландшафті, і включають невеликі населені пункти від східних передмість Вінниці, включаючи Писарівку, Сокиринці, Щитки та їх околиці до с. Гуменне та Комарів – 72 км². На цій площі є і лісові території. Третя ділянка розташована вздовж автошляхів Вінниця – Літин і Літин – Жмеринка, включаючи Літин, Микулинці, Заверівку та території, що до них прилягають (близько 300 км²). Більша частина – типові агроландшафти, включаючи ставки

рибгоспів і долини річок. Всі ці території детально обстежені на наявність колоній граків, в ході досліджень 1970–1978 рр., коли власне і була сформована мережа моніторингових площ і в подальшому в близькі роки – 1982–1988 і в 1994–1996 рр. В 2006 році в ході обліків була обстежена територія, яка дорівнює 84 км². Ця площа частково охоплює першу ділянку (52 км²), частково другу (16 км²) та частину третьої – 16 км².

В зв'язку з дуже нерівномірним розподілом колоніальних поселень грака на території та чисельності гнізд в колоніях, ми вважаємо, що для вирахування достовірної чисельності навіть при одноразовому обліку щільності популяції даного виду було необхідно охоплювати обліком територію, не меншу, ніж 300–400 км². Особливо це важливо при довгострокових моніторингових дослідженнях, оскільки дозволяє не зважати на зникнення і появу деяких і переміщення інших колоній в межах обстежуваної території. Виділені для моніторингу стаціонарні ділянки адекватно відображають співвідношення у Вінницькій області і на Східному Поділлі в цілому окремих типів ландшафтів і відповідають середньому ступеню трансформованості території, зокрема розподілу площ ріллі, лісосулуг, садів, лук, ставів тощо. На "позаміських" пробних ділянках типовий для Поділля відсоток площ і породний склад лісів. На "міській" моніторинговій ділянці приблизно вдвічі, ніж на Вінничині в цілому, перевищений відсоток "урбанізованої" площі, тому середня щільність при розрахунках підраховувалась окремо по трьох моніторингових ділянках, а для перерахунку в середньому на область вводили коефіцієнти, які нормалізували ступінь впливу щільності населення видів на урбанізованих територіях на остаточні результати обліків.

Результати та їх обговорення. В ході досліджень за весь період на обстеженій території було виявлено 97 колоніальних поселень грака (колоній і субколоній), від 30 до 300 гнізд в кожному. Найбільша їх чисельність (53 поселення) була розташована в межах першої облікової ділянки (Вінниця та її передмістя). На території другої ділянки їх нараховувалося 10, а в межах третьої – 34 поселення, які ми об'єднували в 12–14 колоній. Протягом 25 років чисельність колоній і щільність населення грака на досліджуваній території змінювалась слабо. У 70-ті роки в цілому зареєстровано 23 колонії, хоча при кожному обліку виявлялося від 18 до 21 колонії за межами міста і від 18 до 23 у Вінниці, хоча всього в місті у цей період було зареєстровано до 25 колоній (різниця за рахунок зникнення та появи колоній). У 80-ті роки на сільськогосподарських землях реєстрували 21–23 поселення (всього 22), а в 90-ті роки – лише 19. У Вінниці у 80-ті роки чисельність поселень поступово знижувалась з 22 до 20, а в 90-ті їх залишилось лише 15. В цілому колонії поза урбоценозами виявилися стійкішими в часі і дещо більшими за кількістю гніздових пар. В населених пунктах змінюється кожного року місце розташування 10% колоній, приблизно стільки ж зникають або з'являються. Проте помітна частина колоній постійна у просторі і відома

вже понад 40 років. Розрахунки щільності гніздування окремо по "урбанізованій" пробній площі і по замиських територіях дають такі щільності: для 70-х рр. – 10,7 пар/км² у Вінниці і 9,7 пар/км² на сільськогосподарських територіях; для 80-х рр. ці показники дещо збільшилися – 10,6 і 11,8 пар/км² відповідно, а в 90-ті рр. склали 7,9 і 11,5 пар/км².

При повторних обліках у 2005 році ми виявили на території першої ділянки лише 5 колоніальних поселень грака чисельністю від 16 до 233 гнізд (загалом 427 гнізд), що дало щільність 4,3 пар, км². При цьому наш маршрут повинен був захопити 52 колонії грака на території першої ділянки, які існували у 70-80ті роки, та по 7 колоній на другій та третій. На обстежених нами частинах територій другої та третьої облікових ділянок колоній не виявлено взагалі. На основі даних, отриманих маршрутним методом (2005 рік), ми вираховували сучасну щільність популяцій наступних видів: крук – 1,25 особи/км² (або 0,36 пар/км²), сойка – 0,4 ос/км², сорока – 1,07 ос/км², грак – 5,3 ос/км² та сіра ворона – 0,71 ос/км². Отримані значення щільності популяції крука співставимі зі значеннями цього показника в Полтавській (1,0 ос/км²) та Черкаській (0,8 – 1,4 ос/км²) областях, але вищий, ніж у Київській (0,56 ос/км²). В 1970 рр. цей показник дорівнював 0,6 ос/км². Щільність популяції сойки, сороки та сірої ворони знаходяться в межах варіації цього показника на території лісостепу України. Порівняно з

70-80 рр. щільність популяції сойки дещо зростає (з 0,3 ос/км² до 0,4 ос/км²), що може бути пов'язано з поступовим проникненням сойки в населені пункти, чого раніше не спостерігалось. Невелике значення щільності популяції сірої ворони характерне для незаплавлених територій. В залежності від біотопу, його значення може коливатися від 0,04 ос/км² до 32 ос/км². Порівняно з 1970-ми роками щільність популяції грака суттєво зменшилась, в попередні роки вона дорівнювала 16 ос/км². В 80-ті її значення дещо знизилось (до 12 ос/км² – маршрутний облік, 14,2 ос/км² за анкетними даними 5)).

Висновки. Порівняно з 1970–1980 рр. щільність популяції крука та сойки на території Вінницької області дещо зросла, сірої ворони та сороки майже не змінилась, а грака суттєво знизилась, як і чисельність його колоніальних поселень на обстеженій території. Сучасні значення щільності популяцій знаходяться в межах варіації цього показника, характерних для лісостепу України.

1. Зауэр Ф. Птицы. – М., 1998. – С. 288. 2. Воинственский М.А., Петрушенко А.А., Боярчук В.П. Трофические связи грача в степных экосистемах // Вестник зоологии. – М., 1976. – № 6. – С. 19–24. 3. Гузий А.И. Особенности динамики чисельности и экологии крука в Украинских Карпатах. Проблемы изучения и охраны птиц. – Львов-Чернівці, 1995. – С. 45–47. 4. Равкин Ю.С. К методике учета птиц в лесных ландшафтах. // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. – Новосибирск: Наука, 1967. – С. 66–75.

Надійшла до редколегії 23.11.06

УДК 612.821.1+159.983.2

Д. Горлов, студ., Р. Шарафі, асп., В. Богданов, канд. біол. наук.,
В. Лисенко, інж., Ю. Горго, д-р біол. наук.

ВПЛИВ МЕТЕОРОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ НА САМОПОЧУТТЯ І ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЛЮДИНИ В ОСІННІЙ І ВЕСНЯНИЙ ПЕРІОДИ

Досліджено вплив комплексу метеорологічних параметрів (температура, атмосферний тиск, швидкість вітру та низькочастотних флуктуацій атмосферного тиску на усвідомлювані і неусвідомлювані прояви функціонального стану організму людини в різних географічних регіонах. Показано кумулятивний ефект впливу різних факторів. Визначені частотні діапазони інфранизькочастотних флуктуацій атмосферного тиску, які в найбільшому ступені впливають на функціональний стан організму.

The influence of meteorological parameters (temperature, atmospheric pressure, wind speed and low frequencies fluctuations of atmospheric pressure) on functional state of human organism at the different geographical regions was investigated. The cumulative effect of influence of different factors was shown. The frequency range of ultralow fluctuations of atmospheric pressure that influence on functional state in greater degree was determined.

Вступ. Погоду зумовлює велика кількість різних факторів: атмосферний тиск і його коливання, температура, вологість, швидкість вітру, збурення магнітного поля, сонячна радіація, і кожен із них чинить прямий чи опосередкований вплив на самопочуття і функціональний стан (ФС) людини. На організм впливає як погода в цілому, так і її окремі компоненти. Коливання атмосферного тиску можуть діяти різними шляхами: знижують насиченість крові киснем, механічно подразнюють рецептори плеври, очеревини, синовіальної оболонки суглобів, рецептори судин. Вітер викликає перезбудження нервової системи, подразнюючи рецептори шкіри. Дослідження впливу атмосферних параметрів на організм необхідно для передбачення погіршення самопочуття, зниження ФС і працездатності у зв'язку зі змінами атмосферних параметрів та створення ефективних методів корекції ФС [11].

В розвинених країнах приблизно третина населення має підвищену чутливість до зміни погодних умов. Такі негативні прояви як головний біль, слабкість, біль в суглобах, серцебиття з'являються синхронно чи за декілька годин до різкої зміни температури, атмосферного тиску. Інтенсивність проявів залежить від адаптаційних можливостей організму, віку, наявності тих чи інших захворювань, мікроклімату, в якому живе людина, сту-

пеню акліматизації до нього [6]. У людей, які не відчують подібних симптомів, реакції також проявляються, хоча часто і не усвідомлюються. За літературними джерелами, найбільш чутливою є когнітивна сфера. Такі параметри як короточасна пам'ять, увага, латентний період простої сенсомоторної реакції (ЛП) широко застосовуються для визначення змін функціонального стану організму, в першу чергу реагують на різкі зміни природних факторів [4,9]. Існує значна кількість експериментальних даних про здатність природних флуктуацій атмосферного тиску (ФАТ) діапазону нижче 0,1 Гц впливати на нервову систему, змінюючи ФС [6,9,12]. Підвищений інтерес до ФАТ обумовлений значною кількістю даних про високу біологічну активність слабких фізичних факторів при їх тривалому впливі ("проблема малих доз"). Функцію уваги вважають чутливою до когерентності ФАТ, тобто їх періодичного чи хаотичного характеру коливань [12]. Частотні характеристики коливальних процесів вважають визначальними для впливу на організм. Частоти, які викликають різкі зміни в функціонуванні організму, відносять до біо ефективних [10]. Відповідь на них може бути як позитивною (оптимізація ФС), так і негативною. Вважають, що більш інформативною є частота впливу, а амплітуда визначає лише механізм реалізації відповіді організму. Автор зазначає,

що частота є носієм інформації, а види коливань в організмі можуть взаємоперетворюватись. Резонансну відповідь організму на одну і ту ж частоту можуть викликати коливання різної фізичної природи (електромагнітні, акустичні, гравітаційні та ін.). Вплив геофізичних факторів на організм людини має нелінійний характер. Так, вплив магнітного поля Землі на нервову систему може бути як стресорним, так і седативним [1]. Гравітаційний вплив проявляється від молекулярного рівня до рівня систем і цілого організму [8]. Вплив температури на організм людини багато в чому залежить від вологості повітря. При підвищеній вологості посилюється вплив високих і низьких температур. Вплив вітру теж неоднозначний. В холодну погоду вітер викликає переохолодження, збільшуючи тепловіддачу, вплив також посилюється при підвищенні вологості. Вплив атмосферного тиску найменш визначений через постійні флуктуації. При зниженні атмосферного тиску газу, які присутні у внутрішніх органах, призводять до їх розтягання. Змінюючи своє положення під впливом атмосферного тиску, діафрагма може утруднювати дихання, порушувати функції серцево-судинної системи [6].

Завдяки сумарній дії, навіть якщо амплітуда кожного з факторів окремо замала для виникнення реакції [7]. Окрім цього, при дослідженні впливу метеорологічних факторів на організм людини, необхідно враховувати зони оптимуму, зони комфорту і зони екстремальних значень кожного із факторів.

Метою наших досліджень було виявлення усвідомлюваних і неусвідомлюваних особливостей впливу комплексу метеорологічних факторів, таких як ФАТ частотного діапазону 0,3-0,001 Гц, температури, атмосферного тиску, швидкості вітру на організм людини. Під усвідомлюваними ми розуміємо суб'єктивну оцінку самопочуття, настрою і активності за опитувальником "САН" [3], а неусвідомлюваним – об'єктивну оцінку ФС організму за латентними періодами (ЛП) простої сенсомоторної реакції [5]. Для визначення ваги кожного із зазначених факторів у формуванні відповіді організму, порівнювали дані різних груп обстежуваних, які відрізнялись за одними, і були подібними за іншими факторами.

Об'єкт та методи досліджень. Для охоплення якомога ширшого діапазону кліматичних умов, дослідження проводилися в три етапи, що різнились порою року і географічними регіонами. Перший етап проведено з 14 березня по 13 квітня 2005 р. в м. Києві (Україна). Обстежено 75 осіб обох статей (48 чоловіків і 27 жінок) віком 16-30 рр. (група I). Другий етап проведено з 28 вересня по 28 жовтня 2005 р. також в м. Києві. Було обстежено 35 осіб обох статей (15 чоловіків і 20 жінок) віком 17-28 рр. (група II). Третій етап проведено з 9 лютого по 4 квітня 2006 р. в м. Ширазі (Іран). Обстежувані – 25 чоловіків віком 15-30 рр. (група III). Загалом було обстежено 135 добровольців в трьох групах.

На початку експерименту кожний обстежуваний мав підписати угоду про добровільну участь в експерименті і виконання моральних і етичних норм, заповнити опитувальник "самопочуття, активність, настрої" (САН) [3] та анкету персональних даних. Надалі проводили вимірювання латентних періодів (ЛП) простої зорової сенсомоторної реакції за допомогою програми "React 22" [Богданов] для персонального комп'ютера (монітор 14", 640/480 пікселів). Стимульний сигнал – білий квадрат площею 1000 пікселів на чорному фоні, загальна світлість при вимірюванні контактно люксметром Ю117 становила 11 Лк. Лінійні розміри сторони квадрата – 11 мм, кутові розміри – $1^{\circ}20'$. Освітленість робочого місця на відстані 0,5 м від монітора підтриму-

валась на рівні 6-15 Лк. Пред'являли 100 сигналів зі змінним довільно інтервалом 1500-3000 мс для попередження ефекту звикання.

Обстежуваному, що сидів перед монітором (відстань від монітора до очей ~ 50 см), надавалася наступна інструкція: "На пред'яву кожного стимулу ви маєте якнайшвидше натискати одну й ту саму клавішу на клавіатурі із буквеного регістру ведучою рукою. Не відволікатися і не розмовляти під час проходження тестування, намагатися не натискати клавішу передчасно, до появи стимулу. Таке натискання розцінюватиметься як помилка, так само, як і відстрочена відповідь, довша за 500 мс." Тестування тривало 5 хв. Записувалися значення кожного з латентних періодів, розраховувалися середні значення для всіх, а також перших і останніх 50-ти значень. Збільшення часу ЛП інтерпретувалося нами як зниження ФС, а зменшення часу – як покращення ФС.

Моніторинг низькочастотних ФАТ здійснювався безперервно, цілодобово впродовж всього часу дослідження, в Києві та Ширазі за допомогою електронного мікробарометру "Атмосфера-Р1", який розташовувався на відкритому повітрі. Реєструвалися коливання атмосферного тиску від 650 до 1080 Па (від 489 до 812 мм рт. ст.), з роздільною здатністю 1Па і періодом оновлення інформації – 1 с. Зареєстровані дані записувалися в пам'ять приладу і передавалися для подальшого збереження і обробки на комп'ютер по інтерфейсу RS-232.

Попередня обробка даних ФАТ проводилася за допомогою спеціалізованої програми на основі пакету MatLab7.0 (The MathWorks Inc.). Призначення і функції програмного забезпечення обробки первинних даних наступні:

1) Відділити відхилення від середньодобового коливання тиску і побудувати графік цих значень;

2) Методами цифрової спектральної фільтрації (швидке перетворення Фур'є) виділити коливання тиску в 5-ти діапазонах періодів: I – від 1200 с до 120 с; II – від 120 с до 20 с; III – від 20 с до 10 с; IV – від 10 с до 5 с; V – від 5 с до 3 с.

4) За результатами фільтрації побудувати 4 графіка:

- відхилення від середньодобового тиску,
- коливання в діапазоні від 3 с до 1200 с,
- коливання в діапазоні від 120 с до 1200 с,
- коливання в діапазоні від 3 с до 120 с.

5) На основі погодинного спектрального аналізу всіх коливань від 3 с до 1200 с побудувати 5 графіків спектрограм амплітуд коливань в зазначених діапазонах періодів.

6) Також для кожного з 5-ти зазначених діапазонів проводився розрахунок за кожну годину частотної складової (гармоніки) з максимальним значенням амплітуди і вираховувалася погодинна амплітуда коливань в даному діапазоні. Дані зберігались у вигляді таблиць.

Стандартні метеорологічні дані (температура повітря, атмосферний тиск, швидкість вітру) на період проведення експерименту були отримані з метеорологічного центру аеропорту "Жуляни" для Києва і з національного метеорологічного центру Ірану – для Ширазу.

Зведення і подальша статистична обробка проводилася в середовищі Statistica6.0 (StatSoft, USA). Інтенсивність впливу кожного із факторів визначали за відсотком статистично достовірних кореляційних (за Спірманом) зв'язків (по відношенню до усіх можливих).

Результати та їх обговорення. Середні, мінімальні і максимальні значення досліджуваних параметрів для трьох груп представлені в таблиці 1.

Таблиця 1. Середні, мінімальні і максимальні значення погодних факторів в трьох досліджуваних групах

Групи	I			II			III		
Параметри	min	M	max	min	M	max	min	M	max
Температура, °C	-4	+5,2	+19	+1	+11,9**	+23	+4	14,5**	+20
Атмосферний тиск, Па	1010	1019	1028	1010	1024**	1034	1016	1017***	1021
Швидкість вітру, м/с	1	4,8	8,8	0	2,5**	7,3	0	2,3**	6,2
Сумарна амплітуда ФАТ I (1200с-120с), Па	0,9	1,9	4,2	0,9	2,8**	8,0	1,0	3,2**	7,5
Сумарна амплітуда ФАТ II (120с-20с), Па	0,3	0,8	3,0	0,2	2,3**	8,0	0,3	0,8^^	2,4
Сумарна амплітуда ФАТ III (20с-10с), Па	0,2	0,3	1,0	0,1	1,0**	3,8	0,3	0,4^^	1,3
Сумарна амплітуда ФАТ IV (10с- 5с), Па	0,3	0,4	0,7	0,2	0,8**	2,5	0,3	0,4^^	1,0
Сумарна амплітуда ФАТ V (5с-3с), Па	0,2	0,3	0,4	0,2	0,5**	1,5	0,4	0,43*	0,7

M – середнє арифметичне;

min – мінімальне значення;

max – максимальне значення;

ФАТ – інфранизькочастотні флуктуації атмосферного тиску;

*. $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ (за Манна-Уїтні U тестом) – достовірна значуща різниця з групою I;

^^. $p < 0,05$, ^^ – $p < 0,01$ (за Манна-Уїтні U тестом) – достовірно значуща різниця з групою II.

В залежності від середньої температури повітря в досліджуваних групах кількість достовірних ($p < 0,05$) кореляційних зв'язків даних ЛП і температури зростає. При низькому середньому значенні температури +5°C (група I) відсоток достовірних зв'язків становив 5,5, як для чоловіків так і жінок ці зв'язки були негативні, тобто зростання температури призводило до покращення ФС як у чоловіків так і у жінок. При середньому значенні температури +12°C (група II) відсоток достовірних зв'язків становив 7,5, при чому в підгрупі чоловіків ці зв'язки мали від'ємні значення, як і в першій групі, а у жінок – позитивні, тобто у жінок зростання температури призводило до зниження ФС. В групі III, при найвищому середньому значенні температури (+14°C) було 22% зв'язків. Для чоловіків, які складали цю групу зв'язки були позитивні (зниження ФС із зростанням температури).

Пояснити таку закономірність можна виходячи із закону оптимуму, тобто підвищення температури в групі I призводило до покращення функціонального стану організму, що відображалось на зменшенні ЛП. В групі III підвищення температури призводило до протилежного ефекту – зниження функціонального стану організму (зростання ЛП). Група II мала проміжне положення за середньою температурою, коли підвищення температури призводило до покращення функціонального стану чоловіків і зниження – у жінок. З цього можна зробити припущення, що температурний оптимум функціонального стану (за показниками ЛП) для чоловіків і жінок відрізняється, і у чоловіків він більший, ніж у жінок. Збільшення кількості достовірних кореляційних зв'язків із зростанням середньогрупової температури свідчить про збільшення впливу параметру температури при її підвищенні на функціональний стан організму.

Порівнюючи групи за значеннями середнього тиску атмосферного повітря і кількістю виявлених кореляційних зв'язків між значеннями ЛП і тиску, найбільша кількість достовірних ($p < 0,05$) зв'язків (15%) виявлено для значень тиску в 1020ГПа (група I). При зростанні тиску в цій групі показано покращення функціонального стану (зменшення ЛП) для чоловіків, і навпаки – зниження функціонального стану для жінок. В групі II і III достовірних кореляційних зв'язків виявлено мало.

Ми вважаємо, що в групі I знак зв'язків відрізняється у чоловіків і жінок, оскільки для чоловіків оптимальний тиск є вищим ніж для жінок в цій групі. Поясненням виявлення

найбільшої кількості зв'язків ЛП та тиску в групі I може бути найнижча середня температура, що і визначає найбільшу чутливість цієї групи до атмосферного тиску.

За опитувальником САН були виявлені наступні кореляції ($p < 0,05$, за Спірманом):

– настрій у чоловіків в групі I позитивно корелює із швидкістю вітру;

– активність у жінок в групі I позитивно корелює із температурою;

– значна негативна кореляція активності у чоловіків групи II із атмосферним тиском;

– активність у жінок в групі II позитивно корелює із швидкістю вітру;

– у чоловіків (група III) самопочуття позитивно корелює із атмосферним тиском.

Ці дані підтверджують зростання функціонального рівня (за активністю і ЛП) в групі I із зростанням температури, а в групі III – зростання функціонального рівня (за самопочуттям і ЛП) із зростанням атмосферного тиску.

В цілому, ФАТ в досліджуваних групах мали незначні амплітуди, проте чинили досить суттєвий вплив на ФС. За кореляційним аналізом, зв'язків ФАТ різних діапазонів частот та показників ФС організму досліджуваних в трьох групах, виявлено, що коливання діапазонів 1200 с – 120 с та 10 с – 3с позитивно корелюють із ЛП у жінок, що свідчить про негативний вплив при зростанні ФАП на ФС. При співставленні кореляційних зв'язків ФАП та САН показано, що ФАП в більшому ступені впливають на усвідомлювані показники функціонального стану – самопочуття, активність і настрій у чоловіків, ніж у жінок. Це свідчить про те, що на жінок ФАП впливає підсвідомо і змінює їх ФС, а у чоловіків викликає свідомі пристосувальні реакції, які компенсують зсуви ФС. Наша гіпотеза полягає у тому що жінки реагують на ФАП не усвідомлюючи змін стану, а у чоловіків змінюється самопочуття, і завдяки цьому виникає можливість компенсувати зміни ФС.

Необхідно зазначити наявність в нашому дослідженні визначального фактору, який впливав не тільки безпосередньо на функціональний стан, але і модулював вплив інших факторів. Таким фактором була виявлена температура, але ми припускаємо, що за інших умов може бути і інший фактор. Для досліджень із впливу метеорологічних факторів необхідно обов'язково встановити, який із факторів є визначальним і враховувати його дію на впливи інших факторів.

Висновки. Показано, що оптимальна температура повітря, за якої функціональний стан є найкращим, вище у чоловіків, ніж у жінок. Виявлено, що вплив коливань атмосферного тиску із періодом 1200-120 с та 10-3 с на функціональний стан жінок найбільш виражений, імовірно через біоефективність таких частот. Навіть при незначних амплітудах (до 10 Па), флуктуації атмосферного тиску пов'язані із усвідомлюваними показниками функціонального стану (самопочуття, активність і настрій) у чоловіків і неусвідомлюваними (латентні періоди простої сенсомоторної реакції) у жінок. Низька температура і коливання атмосферного тиску низьких частот збільшують чутливість людей до атмосферного тиску. Одночасна дія факторів може змінюватися під впливом одного визначального фактору. Визначальним фактором може бути будь який з досліджуваних метеофакторів, при умові екстремальності його величини.

1. Белов Д.Р., Кануников И.Е., Киселёв Б.В. Зависимость пространственной синхронности ЭЭГ человека от геомагнитной активности в день опыта // Росс. физiol. журн. им. И.М. Сеченова. – 1998. – том 84. – № 8. – С. 761–774. 2. Богданов В.Б., Горго Ю.П. Индивидуально-типологичні особливості латентних періодів сенсомоторних реакцій людини // Інформаційна та негентропійна терапія. – 2001. – № 1. – С. 15–16.

УДК 612.821:612.82/83

3. Доскин В.А., Лаврентьева Н.А., Стронгина О.М., Шарай В.Б. Психологический тест "САН" применительно к исследованиям в области физиологии труда // Гиг.тр. проф. Заболотного. – 1975. – № 5. – С. 28–32. 4. Колосова О.А., Миндлина Г.Э. Влияние метео- и гелиофакторов на состояние вегетативной нервной системы и адаптивные возможности человека // Журнал невропатологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. – 1987. – том 87. – вып. 1. – С. 136–142. 5. Лоскутова Т.Д. Оценка функционального состояния центральной нервной системы по параметрам простой двигательной реакции // Физиол. Журн. СССР. – 1975. – том 61. – № 1. – С. 3–11. 6. Пристром А.М., Мрочек А.Г. Метеочувствительность // Медицина, 2002. – № 2. – С. 37–39. 7. Рагульская М.В. // Управление адаптацией биологических систем при воздействии факторов естественной внешней среды: Матер. 1-й межотраслевой конференции "Системы поддержки и принятия решений", Киев, 2005. – К., 2005. – С. 169–172. 8. Сиваков В.И., Сиваков Д.В. Хронобиологические факторы, влияющие на соревновательную деятельность биатлонистов // Теория и практика физической культуры. – 2005. – № 12. – С. 28. 9. Сучкина Е.Г. Влияние метеофакторов на психофизиологические реакции человека // Физиология человека. – 1985. – том 11. – № 3. – С. 470–473. 10. Хабарова О.В. Биозффективные частоты и их связь с собственными частотами живых организмов // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2002. – № 5. – С. 56–66. 11. Cooke L.J., Rose M.S., Becker W.J. Chinook winds and migraine headache // Neurology. – 2000. – № 54. – Р. 302–307. 12. Delyukov A., Didyk L. The effects of extra-low-frequency atmospheric pressure oscillations on human mental activity // Int. J. Biometeorol. – 1999. – № 43. – Р. 31–37.

Надійшла до редколегії 19.03.07

Л. Чікіна, пров. інж., Ю. Горго, д-р біол. наук, проф.

ВПЛИВ ПРОЦЕСУ УЯВНОЇ РОТАЦІЇ ОБ'ЄКТІВ НА ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШКІРИ ЛЮДИНИ

Проводилися дослідження електрофізіологічних характеристик шкіри людини в оптимальних умовах та в умовах значного психоемоційного та психофізіологічного навантаження. Виявлено оптимізуючий вплив вирішення просторових завдань на функціональний стан обстежуваних.

Researches of electrophysiological characteristics of a skin of the person in optimal conditions and in conditions appreciable psychoemotional and psychophysiological loads were carried out.. Optimizing influence of solution of spatial problems on the functional state researched is revealed.

Вступ. В попередніх дослідженнях ми намагалися оцінити функціональний стан (ФС) обстежуваних комплексно, аналізуючи як психофізіологічні функції, так і електрофізіологічні характеристики шкіри людини [3]. Також вдалося довести доцільність виконання задач зорово-просторового змісту з метою оптимізації психофізіологічних показників обстежуваних [4].

Саме тому доцільно дослідити ще і характер зміни електрофізіологічних характеристик шкіри людини при виконанні комп'ютерних задач зорово-просторового змісту з метою визначення можливої оптимізації ФС обстежуваних.

Об'єкт і методи дослідження. В дослідженнях як обстежувани брали участь 183 слухачі Української військово-медичної академії обох статей віком 23-25 років. У всіх обстежуваних реєструвалися абсолютні значення статичних електричних потенціалів (СТЕП) в наступних симетричних правих та лівих біологічно-активних зонах (БАЗ) шкіри обличчя: лобних, надбрівних, біляносових, скроневих, біля вушних [1,5]. Величини абсолютних значень СТЕП в лобних правих і лівих БАЗ ми позначали як ЛП, ЛЛ; в надбрівних – НП,НЛ; в біляносових – БНП, БНЛ; в скроневих – СП, СЛ; в білявушних – БВП, БВЛ.

Контрольну групу складали слухачі (n=55), які успішно пройшли відбіркове тестування і знаходилися в стані спокою. Реєстрацію СТЕП в цій групі здійснювали одноразово. У представників трьох інших груп реєстрація СТЕП проводилася тричі: перед початком відбіркового тестування, після тестування та після виконання завдань зорово-просторового змісту.

Відбіркоче тестування складалося з комп'ютерного визначення наступних психофізіологічних характеристик: коефіцієнта сили нервової системи (КС), функціонально-

го рівня системи (ФРС), швидкості простої сенсомоторної реакції (ПСМР), середньої швидкості реакції вибору (ШРВ), функціональної рухливості нервових процесів (ФРНП), працездатності головного мозку (ПГМ), точності реакції на рухомий об'єкт (РРО), обсягу короткочасної пам'яті (ОКП) [8], визначення рівня тривожності за Спілбергом [2] та проходження тесту Люшера [6].

Зорово-просторові завдання розроблені в нашій лабораторії [7] були представлені трьома комп'ютерними тестами:

Тест №1. "Уявна ротація простих об'єктів". Почергово пропонувалося 15 груп зображень літер та цифр. Необхідно визначити, яка із 5 зображених на екрані літер або цифр є дзеркальним відображенням справжнього об'єкту. Максимальний час експозиції 5 зображень на екрані – 60 с. Результати даного тесту оцінювалися кількістю допущених помилок та середнім часом ідентифікації запропонованих об'єктів.

Тест №2. "Уявна ротація складних об'єктів". Почергово пропонувалося 20 груп зображень геометричних фігур. Необхідно визначити, яка із 5 зображених на екрані фігур є дзеркальним відображенням справжнього об'єкту. Максимальний час експозиції 5 зображень на екрані – 60 с. Результати даного тесту оцінювалися кількістю допущених помилок та середнім часом ідентифікації запропонованих об'єктів.

Тест №3. "Уявна ротація складних об'єктів з використанням короткочасної пам'яті". Почергово пропонувалося 10 тестових стимулів (геометричних фігур – багатокутників з елементами опуклих та ввігнутих дуг). Зображення кожного чергового тестового стимула зберігалося на екрані впродовж 3 с. Потім це зображення зникало і

з'являлися 2 фігури, одна з яких співпадала по формі з тестовим стимулом, а друга була його дзеркальним відображенням. При цьому кутова невідповідність між двома зображеннями поступово зростала з кроком в 45° у кожному завданні від 0° до 315°. У правому верхньому куті екрану висвічувалася величина чергової кутової невідповідності. Максимальний час еспозиції двох фігур на екрані становив 30 с. Результати виконання даного тесту оцінювалися за кількістю допущених помилок, середнім часом ідентифікації тестового стимула з врахуванням величини кутової невідповідності та часом, який був витрачений на виконання всього тесту.

Саме за ознакою проходження того чи іншого тесту на уявну ротацію об'єктів обстежувани були розподілені на три групи. До I групи увійшло 39 слухачів, які виконували тест № 1, до II групи – 45 слухачів, які виконували тест № 2, до III групи увійшли 44 слухачі, які виконували тест № 3.

Результати та їх обговорення. Використовуючи непараметричний критерій Манна та Уїтні для незалежних вибірок ми провели порівняльний аналіз абсолютних значень СТЕП до тестування, після тестування та після ротації зі значеннями СТЕП, які були зареєстровані в стані спокою (табл. 1). Були отримані наступні результати:

За умов наявності психоемоційного напруження (до тестування). У представників I групи не виявлено значущих змін СТЕП. У представників II групи значення СТЕП в скроневій правій БАЗ перевищували відповідне значення потенціалу в стані спокою ($p < 0.05$). У обстежуваних III групи значення потенціалів в лобних, надбрівних, біляносовій лівій, скроневих та білявушній правій БАЗ шкіри були значуще вищими ($p < 0.05$) ніж в стані спокою.

Після проходження тестування. У обстежуваних I групи значущих змін потенціалів не виявлено. У представників II групи спостерігалось підвищення СТЕП в лобній та надбрівній лівих БАЗ ($p < 0.05$). В III групі значення потенціалів в лобних, надбрівних, біляносових та білявушній правій перевищувало значення потенціалів у відповідних зонах в стані спокою ($p < 0.05$).

Після виконання зорово-просторового завдання. У обстежуваних усіх трьох груп значення СТЕП у досліджуваних БАЗ після виконання зорово-просторового завдання значуще не відрізнялися від величин потенціалів у відповідних БАЗ в стані спокою. Отримані результати наводять на думку про те, що процес уявної ротації не є стресогенним фактором, який би негативно впливав на функціональний стан обстежуваних.

Таблиця 1. Електрофізіологічні характеристики шкіри у обстежуваних, медіана(верхній, нижній кuartиль)

БАЗ	Абсолютні значення СТЕП (мВ)			
	Стан спокою. Контр. група (n=55)	I група обстежуваних (n=39)		
		До тестування	Після тестування	Після ротації
лобна права	45(36, 52)	45(35, 51)	42(37, 50)	43(35, 50)
лобна ліва	46(38, 52)	44(40, 51)	45(38, 52)	43(38, 50)
надбровна права	45(40, 54)	48(40, 55)	45(40, 55)	46(40, 52)
надбровна ліва	44(35, 52)	45(40, 54)	45(40, 54)	45(38, 53)
біляносова права	46(38, 55)	46(38, 55)	46(39, 55)	48(40, 55)
біляносова ліва	43(37, 52)	45(40, 50)	45(35, 54)	43(35, 52)
скронєва права	49(42, 59)	50(45, 60)	49(42, 57)	50(42, 55)
скронєва ліва	47(42, 57)	48(42, 57) *	48(39, 55)	47(35, 55)
білявушна права	49(42, 57)	55(45, 62) *	52(42, 56)	50(42, 56)
білявушна ліва	48(40, 60)	50(45, 60)	50(42, 57)	50(42, 56)
	Стан спокою. Контр. група (n=55)	II група обстежуваних (n=45)		
		До тестування	Після тестування	Після ротації
лобна права	45(36, 52)	45(40, 51)	47(40, 54)	45(36, 51)
лобна ліва	46(38, 52)	45(40, 53)	50(42, 57) #	47(40, 52)
надбровна права	45(40, 54)	50(40, 54)	50(40, 55)	45(40, 55)
надбровна ліва	44(35, 52)	48(40, 51)	50(40, 55) * #	47(40, 52)
біляносова права	46(38, 55)	50(40, 55) *	46(39, 55)	42(35, 55)
біляносова ліва	43(37, 52)	46(40, 55)	44(37, 55)	45(35, 50)
скронєва права	49(42, 59)	55(50, 60) * #	53(44, 59)	50(43, 59)
скронєва ліва	47(42, 57)	52(45, 58)	50(43, 56)	50(40, 55)
білявушна права	49(42, 57)	53(50, 57)	52(45, 60)	52(42, 55)
білявушна ліва	48(40, 60)	52(45, 55)	50(40, 55)	50(40, 55)
	Стан спокою. Контр. група (n=55)	III група обстежуваних (n=44)		
		До тестування	Після тестування	Після ротації
лобна права	45(36, 52)	50(42, 55) #	50(45, 55) * #	48(40, 51)
лобна ліва	46(38, 52)	50(44, 55) #	54(45, 55) * #	50(43, 54)
надбровна права	45(40, 54)	52(50, 60) #	53(50, 59) * #	50(44, 55)
надбровна ліва	44(35, 52)	50(46, 55) #	52(48.5, 55) * #	50(41, 55)
біляносова права	46(38, 55)	51(42, 58)	53(47.5, 57.5) * #	50(40, 55)
біляносова ліва	43(37, 52)	49(41, 55) #	50(46.5, 55) * #	45(40, 53)
скронєва права	49(42, 59)	55(50, 60) * #	55(50, 55)	51(45, 55)
скронєва ліва	47(42, 57)	55(46, 58) #	53(49, 59)	53(42, 60)
білявушна права	49(42, 57)	54(50, 58) #	55(50, 60) * #	50(45, 55)
білявушна ліва	48(40, 60)	50(49, 56)	52(50, 60)	50(45, 55)

Примітки: # – значуща різниця ($p < 0.05$) між відповідними показниками СТЕП в стані спокою та дослідом;

* – значуща різниця ($p < 0.05$) між значеннями СТЕП в стані до тестування та після тестування з відповідними показниками СТЕП після ротації.

Аналіз показників СТЕП до тестування, після тестування та після ротації з використанням непараметричного критерію Вілкоксона (див. табл. 1) виявив наступні значущі ($p < 0.05$) різниці СТЕП: у представників I групи значення СТЕП в скроневій лівій та білявушній правій

БАЗ до навантаження перевищувало відповідне значення СТЕП після ротації; в II групі – значення СТЕП в біляносовій лівій та скроневій правій БАЗ до тестування та лобній, надбрівній лівих БАЗ після тестування перевищувало значення СТЕП у відповідних зонах після

виконання зорово-просторового завдання; у представників III групи – значення потенціалів в лобних, надбрівних, біляносових, в скроневій правій та білявушній правій БАЗ до тестування перевищували відповідні значення СТЕП після виконання просторового завдання. Тобто, після виконання уявної ротації об'єктів, абсолютні величини СТЕП у вище зазначених зонах значуще змінюються і наближаються до значень СТЕП, зареєстрованих у стані спокою.

Хочеться зазначити, що зміни абсолютних значень потенціалів зареєстрованих при різних функціональних станах обстежуваних найбільш яскраво проявилися у представників III групи. Ці зміни (див. табл. 1) підтвердили наявність оптимізуючого впливу процесу вирішення завдань просторової ідентифікації геометричних об'єктів з використанням короткочасної пам'яті на функціональний стан обстежуваних. У представників I та II груп оптимізуючий вплив процесу уявної ротації на їх функціональний стан проявився значно слабкіше.

Тому з'явилася необхідність проаналізувати кореляційні взаємозв'язки показників СТЕП з отриманими нами психофізіологічними показниками при різних функціональних станах. Так як вивчаємі характеристики не підлягають нормальному розподілу, то для пошуку зв'язків між СТЕП та психофізіологічними параметрами ми використовували рангову кореляцію за Спірманом. Були отримані наступні значущі кореляції між електрофізіологічними та психофізіологічними параметрами:

У обстежуваних I групи: до тестування величини НП та ЗБУД мали між собою коефіцієнт кореляції $r = -0.49$ при $p = 0.002$; НП та УРІВН – $r = -0.32$ при $p = 0.048$; НЛ та ЗБУД – $r = -0.37$ при $p = 0.022$; БНП та ЗБУД – $r = -0.34$ при $p = 0.036$; всього 4 кореляційних взаємозв'язків. Після тестування величини ЛП та ЗБУД мали між собою коефіцієнт кореляції $r = -0.39$ при $p = 0.015$; ЛП та УРІВН – $r = -0.36$ при $p = 0.024$; ЛЛ та ЗБУД – $r = -0.460$ при $p = 0.003$; ЛЛ та УРІВН – $r = -0.41$ при $p = 0.009$; НП та РРО – $r = -0.32$ при $p = 0.049$; НП та ЗБУД – $r = -0.36$ при $p = 0.026$; БНП та ОКП – $r = -0.32$ при $p = 0.047$; СЛ та ЗБУД – $r = -0.32$ при $p = 0.044$; всього 8 кореляційних взаємозв'язків. Після ротації величини БНП та ЗБУД мали між собою коефіцієнт кореляції $r = -0.36$ при $p = 0.025$; БНЛ та ЗБУД – $r = -0.35$ при $p = 0.028$; всього 2 кореляційних взаємозв'язка.

У обстежуваних II групи: до тестування величини ЛЛ та ГАЛЬМ мали між собою коефіцієнт кореляції $r = 0.32$ при $p = 0.036$; БНП та ШРВ – $r = -0.34$ при $p = 0.024$; БНП та ШРВП – $r = -0.31$ при $p = 0.04$; БНП та ШРВЛ – $r = -0.38$ при $p = 0.011$; БНЛ та ПСМР – $r = -0.36$ при $p = 0.016$; БНЛ та ШРВ – $r = -0.37$ при $p = 0.014$; БНЛ та ШРВП – $r = -0.36$ при $p = 0.018$; БНЛ та ШРВЛ – $r = -0.37$ при $p = 0.014$; БВП та ШРВ – $r = -0.31$ при $p = 0.043$; БВП та ШРВЛ – $r = -0.35$ при $p = 0.02$; всього 10 кореляційних взаємозв'язків. Після тестування величини НП та УРІВН мали між собою коефіцієнт кореляції $r = 0.38$ при $p = 0.011$; НП та ФРНП – $r = -0.33$ при $p = 0.027$; БНП та УРІВН – $r = 0.31$ при $p = 0.038$; БНЛ та ПСМР – $r = -0.37$ при $p = 0.013$; БНЛ та ШРВ – $r = -0.32$ при $p = 0.033$; БНЛ та ШРВП – $r = -0.35$ при $p = 0.019$; БНЛ та ШРВЛ – $r = -0.31$ при $p = 0.044$; БНЛ та ФРНП – $r = 0.31$ при $p = 0.04$; БНЛ та УРІВН – $r = 0.32$ при $p = 0.036$; СЛ та ПСМР – $r = -0.31$ при $p = 0.038$; СЛ та УРІВН – $r = 0.37$ при $p = 0.013$; СЛ та УРІВН – $r = 0.42$ при $p = 0.005$; БВП та УРІВН – $r = 0.33$ при $p = 0.028$; БВЛ та ЗБУД – $r = 0.31$ при $p = 0.043$; БВЛ та УРІВН – $r = 0.35$ при $p = 0.019$; всього 15 кореляційних взаємозв'язків. Після ротації величини ЛП та УРІВН мали між собою коефіцієнт кореляції $r = 0.31$ при $p = 0.038$; ЛЛ та ФРНП – $r = 0.33$ при $p = 0.027$; БНЛ та ПСМР – $r = -0.39$ при $p = 0.01$; БНЛ та ШРВП – $r = -0.31$ при $p = 0.04$; БНЛ та ФРНП – $r = 0.33$ при $p = 0.029$; СЛ та ЗБУД

– $r = 0.33$ при $p = 0.028$; СЛ та УРІВН – $r = 0.40$ при $p = 0.007$; СЛ та УРІВН – $r = 0.34$ при $p = 0.023$; всього 8 кореляційних взаємозв'язків.

У обстежуваних III групи: до тестування величини БВП та ЗБУД мали між собою коефіцієнт кореляції $r = -0.32$ при $p = 0.041$; БВЛ та ЗБУД – $r = -0.37$ при $p = 0.012$; всього 2 кореляційних взаємозв'язка. Після тестування величини НП та ФРС мали між собою коефіцієнт кореляції $r = -0.31$ при $p = 0.041$; НП та ПСМР – $r = 0.33$ при $p = 0.026$; НП та ШРВ – $r = 0.42$ при $p = 0.005$; НП та ШРВП – $r = 0.43$ при $p = 0.004$; НП та ПГМ – $r = -0.49$ при $p = 0.001$; НЛ та ПГМ – $r = -0.49$ при $p = 0.001$; БНП та ФРС – $r = -0.45$ при $p = 0.002$; БНП та ПСМР – $r = 0.32$ при $p = 0.03$; БНП та ШРВ – $r = 0.36$ при $p = 0.016$; БНП та ШРВП – $r = 0.39$ при $p = 0.001$; БНП та ПГМ – $r = -0.44$ при $p = 0.003$; БНЛ та ФРС – $r = -0.47$ при $p = 0.001$; БНЛ та ПСМР – $r = 0.33$ при $p = 0.03$; БНЛ та ШРВ – $r = 0.45$ при $p = 0.002$; БНЛ та ШРВП – $r = 0.40$ при $p = 0.008$; БНЛ та ПГМ – $r = -0.36$ при $p = 0.016$; СЛ та ФРС – $r = -0.41$ при $p = 0.006$; СЛ та ПГМ – $r = -0.31$ при $p = 0.04$; СЛ та ПГМ – $r = -0.31$ при $p = 0.04$; БВП та КС – $r = 0.36$ при $p = 0.02$; БВП та ПГМ – $r = -0.34$ при $p = 0.02$; БВП та ЗБУД – $r = -0.35$ при $p = 0.02$; БВП та ОКП – $r = -0.31$ при $p = 0.04$; БВЛ та ПГМ – $r = -0.44$ при $p = 0.003$; всього 25 кореляційних взаємозв'язків. Після ротації величини ЛП та ПГМ мали між собою коефіцієнт кореляції $r = -0.38$ при $p = 0.01$; ЛЛ та ПГМ – $r = -0.40$ при $p = 0.008$; НЛ та ПГМ – $r = -0.39$ при $p = 0.009$; БНП та КС – $r = 0.47$ при $p = 0.001$; БНП та ФРС – $r = -0.47$ при $p = 0.001$; БНП та ПСМР – $r = 0.38$ при $p = 0.01$; БНП та ПГМ – $r = -0.40$ при $p = 0.007$; БНЛ та КС – $r = 0.34$ при $p = 0.02$; БНЛ та ФРС – $r = -0.37$ при $p = 0.01$; БНЛ та ПГМ – $r = -0.40$ при $p = 0.008$; СЛ та КС – $r = 0.50$ при $p = 0.001$; СЛ та КС – $r = 0.34$ при $p = 0.03$; СЛ та ПГМ – $r = -0.33$ при $p = 0.03$; БВП та КС – $r = 0.31$ при $p = 0.038$; БВП та ПГМ – $r = -0.31$ при $p = 0.007$; БВЛ та КС – $r = 0.32$ при $p = 0.03$; всього 17 кореляційних взаємозв'язків.

Із наведених даних видно, що при дії психоемоційного напруження (стан до тестування) у обстежуваних спостерігається менш детермінована структурна організація зв'язків досліджуваних характеристик, ніж після тестування. Після виконання зорово-просторових завдань детермінованість зв'язків між СТЕП та психофізіологічними параметрами суттєво знижується в порівнянні зі станом після тестування. Причому, у обстежуваних I та II груп після ротації кількість кореляційних взаємозв'язків нища не тільки при порівнянні зі станом після тестування, а й зі станом перед тестуванням. Так як ступінь детермінації системи безпосередньо пов'язаний зі ступенем активації системи, то наведені дані дають змогу підтвердити оптимізуючий вплив вирішення зорово-просторового завдання на функціональний стан обстежуваних.

Висновки. Вирішення зорово-просторових завдань не є стресогенним фактором для людини, яка виконує інтелектуальну роботу з використанням комп'ютера. Уявна ротація об'єктів за умов значних психоемоційних та психофізіологічних навантажень сприяє оптимізації електрофізіологічних характеристик шкіри, які в свою чергу дають можливість оцінити функціональний стан обстежуваних.

1. Горго Ю.П. Диагностирование состояния человека по кожно-электрическим процессам // Нейробионика и моделирование биосистем. – Киев: Изд. ИК АН УССР, 1980. – С. 64–73. 2. Дворский А.Е., Мельникова В.А. Практикум по основам психологии, тесты и хрестоматия. – Симферополь: СОНАТ, 1986. – С. 87–89. 3. Макаручук М.Ю., Чікіна Л.В. Электрофизиологичні та психофізіологічні реакції обстежуваних за умов підвищеної відповідальності за результат // Вісн. Київ. ун-ту. Фізіологія. – 2005. – вип. 10. – С. 13–15. 4. Макаручук М.Ю., Чікіна Л.В., Філімонова Н.Б., Глушак С.О. Оптимізуючий вплив вирішення просторових задач на функціональний стан людини // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2003. – вип. 41. – С. 148–151. 5. Подшибякин А.К. Значение активных точек кожи для эксперимента и клиники: Автореф. дисс. д.м.н. – К., 1960. 6. Собчик Л.Н. Метод цветowych выборов. Модифицированный тест Люшера: Методическое руководство. – М., 1990. – 132 с. 7. Тернова Л.В., Чайченко Г.М., Горго Ю.П., Поляню І.В. Дослідження здатності людини

до зорового розпізнавання образів різноорієнтованих у просторі об'єктів // Вісн. Черк. ун-ту. Актуальні проб. фізіології. – 1998. – вип. 2. – С. 112–116. 8. Філімонова Н.Б. Комп'ютерна експрес-методика для вивчення

психофізіологічного стану людини // Культура здоров'я. Збірник науково-методичних праць. – Херсон, 2000 – С. 204–209.

Надійшла до редколегії 02.03.07

УДК 581.526 (477.52-751.3)

О. Лукаш, канд. біол. наук, докторант

АЛЬНЕТАЛЬНИЙ ФЛОРОЦЕНОТИЧНИЙ КОМПЛЕКС СХІДНОГО ПОЛІССЯ

Проведений аналіз альнетального флороценотичного комплексу Східного Полісся. Приділена увага його синантропізації. Висвітлений стан охорони заболочених вільшняків у регіоні.

The analysis of alnetal florocenotical complex of the Eastern Polissya is carried out. The attention it sinantropisation is given. The status of protection of alder swamps in region is presented.

Вступ. Осушення й освоєння лісових боліт, як і висока окультуреність лісового ландшафту Полісся, обумовлює проникнення на лісові болота значного числа нетипових видів рослин. Цьому сприяє також нестійке зволоження, особливо на півдні регіону. В результаті на болотах збільшується кількість факультативних видів за рахунок мігрантів лук, лісів і синантропних видів. За останні десятиліття число випадкових видів збільшилося, і ця тенденція в перспективі буде зростати, що, безумовно, обумовить зміну самої структури лісово-болотної флори і появу в регіоні неоеценозів [1]. Ці тенденції стосуються і лісових боліт Східного Полісся. Тому моніторинг флори лісових боліт доцільно проводити у контексті розподілу її за флористичними комплексами.

Матеріали та методика досліджень. Щодо обсягу поняття флористичного комплексу в цілому та альнетального флороценотичного комплексу зокрема, ми дотримуємося підходів, викладених в працях [9, с. 254] та [1, с. 98]. Для визначення приналежності видів до альнетального флороценотичного комплексу були проаналізовані 236 геоботанічних описів лісових боліт у межах Східного Полісся, виконаних протягом 1995–2006 років. В роботі використані також анотовані списки видів судинних рослин [3, 7, 11], а також праці, присвячені флорі та рослинності боліт Полісся [1, 10]. Були використані гербарні матеріали Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (КИ), Чернігівського державного педагогічного університету імені Т.Г. Шевченка, Гомельського державного університету імені Ф. Скорики та заповідника "Брянський ліс". Назви таксонів подані за працею С. Мосіякіна та М. Федорончука [13].

Результати та їх обговорення. Альнетальний флороценотичний комплекс Східного Полісся включає 197 видів судинних рослин і перевищує кількість, що наводиться для ценофлори чорновільхових боліт одного з його районів – Нерусо-Деснянського Полісся (141 вид) [10] та менше, ніж для Українського Полісся (267) [1].

Види альнетального комплексу належать 34 родинам. Найбільші з них – *Cyperaceae* (21 вид), *Rosaceae* (14 видів) та *Rosaceae* (10 видів). І. Григора та ін. зазначають [1], що незважаючи на численність альнетального комплексу, у ньому мало видів, спільних з іншими комплексами, у чому і виявляється його індивідуальність і специфічність. За провідними родинami з альнетальним флороценотичним комплексом близько споріднені альнетально-бетулярний, альнетально-пінетальний і альнетально-бетулярно-пінетальний. У систематичному аспекті їхній генетичний взаємозв'язок виражається в домінуванні перших трьох родин, що охоплюють 40-50% переважно бореальних і неморальних видів. Угрупування цих флороценотипів мало поширені і частіше зустрічаються на стику альнетального й альнетально-бетулярного комплексів.

Альнетальний флороценотичний комплекс Східного Полісся охоплює види, які за флористичною класифікацією [6] мають наступну ценотичну приуроченість:

ALNETEA GLUTINOSAE Br.-Bl. et R.Tx. 1943

ALNETALIA GLUTINOSAE R.Tx. 1937

Alnion glutinosae Malcuit 1929

Sphagno squarrosi-Alnetum Sol.-Górn. 1975 (incl. Carici appropinquatae-Betuletum pubescentis Hryhora et al. 2005, ~ Sphagno palustris-Alnetum Allorge ex Lemée 1939)

Carici elongatae-Alnetum W.Koch 1926 ex Tx. 1931 (incl. Ribeso nigri-Alnetum Sol.-Górn. (1975) 1987, incl. Calamagrostio canescenti-Alnetum Sol.-Górn. 1975, incl. Mnio affini-Alnetum glutinosae Hryhora et al. 2005)

Лісові болота класу Alnetea glutinosae поширені на притерасних, рідше заплачних болотах малих річок та зрідка прируслових болотах. Зволоження на таких ділянках здебільшого значне, ґрунти мулуваті, поклади торфу незначні (від 0,3 м до 3,0 м) або майже відсутні. Характерною особливістю лісових боліт є добре виявлена мозаїчність рослинного покриву. Найбільшим поширеними є ценози чорновільхово-трав'яних боліт, які належать до асоціації Carici elongatae-Alnetum. На ділянках цієї асоціації стовбури дерев піднімаються на пристовбурних підвищеннях – "п'єдесталах", між якими дуже зволожені, часом обводнені зниження. Також часто трапляються обводнені вільшняки з більш вирівняною поверхнею. Деревостан здебільшого має зімкненість крон 0,5–0,8, заввишки 16–18 м. У складі деревостану крім *Alnus glutinosa* (L.) Gaerth часто поодинокі трапляються *Betula pubescens* Ehrh. По стовбурах дерев в'ється *Humulus lupulus* L. Підлісок, як правило, не виявлений. Трапляються поодинокі екземпляри *Rubus caesius*, *Salix cinerea* L., *Ribes nigrum* L. Травостій має проективне покриття 50–70%. Як домінанти виступають *Thelypteris palustris* Schott, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Carex omskiana* Meinsh., *Urtica galeopsifolia* Wierzb. ex Opiz. З покриттям до 20% у травостой обводнених угруповань трапляються *Carex vesicaria* L., *Equisetum fluviatile*. Як асектатори з покриттям 2–5% виступають *Calla palustris* L., *Polygonum amphibium*, *P. Hydropiper* L., *Mentha aquatica*, *Comarum palustre* L., *Menyanthes trifoliata* L., *Galium palustre*, на п'єдесталах – *Solanum dulcamara* L., *Lysimachia vulgaris*, *Dryopteris cartusiana*, *D. cristata* (L.) A. Gray.

Ділянки з домінуванням *Thelypteris palustris* та *Urtica galeopsifolia* характеризуються невеликим зволоженням та слабкою диференціацією мікрорельєфу. Моховий ярус не виявлений. Висока видова насиченість комплексу обумовлюється неоднорідністю впливу екотопу, ценотичних властивостей і антропогенного фактора. Частина лісових боліт внаслідок осушувальної меліорації трансформована, відбулася зміна травостою на більш мезофітні угруповання.

Асоціація угруповань чорновільхово-сфагнових Sphagno squarrosi-Alnetum, у порівнянні з Carici elongatae-Alnetum, має більш північний ареал [10], а тому на Східному Поліссі вона частіше трапляється у Нерусо-Деснянському Поліссі порівняно з іншими фізико-географічними районами. Угрупування асоціації

поширені в районі спорадично і займають мезоевтрофні ділянки притерасних та долинних боліт. Ці болота мають розвинуті торф'яні відкладення, глибина яких сягає 1,5–2,5 м. Обводненість чорновільхово-сфагнових боліт невисока. Деревний ярус угруповань утворює *Alnus glutinosa* з істотною домішкою *Betula pubescens*, *Pinus sylvestris* і *Picea abies*. Чагарниковий ярус розвинений слабо. У підліску звичайними видами є *Salix cinerea* L. і *Frangula alnus* Mill., а у підрості – *Alnus glutinosa* і *Betula pubescens*. Трав'яний ярус розріджений (50–60% проективного покриття), доміанти звичайно не виражені. Травостій являє собою суміш мезоевтрофних (*Carex lasiocarpa* Ehrh., *Comarum palustre* L., *Naumburgia thyrsiflora* (L.) Rchb.) та евтрофних (*Carex elongata* L., *Iris pseudacorus* L., *Lysimachia vulgaris* L.) видів. Моховий покрив досить густий (40–70% проективного покриття). У ньому домінує *Sphagnum squarrosum* Crome. і рясний *Climacium dendroides* Web ex Mohr. серед інших мохоподібних трапляються *Sphagnum fallax* (Klinggr.) Klinggr., *S. fimbriatum* Wils., *S. teres* (Schimp.) Aongstr., *Calliergon giganteum* (Schimp.) Kindb. та деякі інші види.

За ступенем вірності болотним місцезростанням види альнетального флорокомплексу нами були розподілені на п'ять груп.

До першої групи належать види, які зростають лише на болотах. Це *Calamagrostis stricta* (Timm) Koeler, та *Carex elata* All.

Кількість видів, які віддають перевагу болотним місцезростанням, але іноді зростають у інших місцезростаннях, становить 17. Серед них звичайними є *Alnus glutinosa*, *Calamagrostis canescens* (Weber) Roth, *Carex elongata* L., *C. Pseudocyperus* L., *C. riparia* Curtis, *Peucedanum palustre* L., *Thelypteris palustris*. Спорадично трапляються *Carex acutiformis* Ehrh., *C. appropinquata* Schum., *C. caespitosa* L., *C. rostrata* Stokes, *Dryopteris cristata* (L.) A.Gray, *Menyanthes trifoliata*, *Naumburgia thyrsiflora*. Зрідка виявлені у лісових болотах *Carex lasiocarpa*, *C. Remota* L., *Poa remota* Forselles.

Серед видів, які зростають у різних місцезростаннях, але оптимальний їх розвиток відбувається у болотах звичайними є *Athyrium filix-femina* (L.) Roth, *Calla palustris* L., *Cardamine amara* L., *Carex acuta* L., *C. cinerea* Pollich, *C. Vesicaria* L., *Cicuta virosa* L., *Equisetum fluviatile* L., *Galium palustre* L., *Iris pseudacorus*, *Lycopus europaeus* L., *Lysimachia vulgaris*, *Phragmites australis*, *Salix cinerea*, *Scirpus sylvaticus* L., *Scutellaria galericulata* L., *Solanum dulcamara* L., *Urtica galeopsifolia*, *Viola uliginosa* Besser. Спорадично трапляються *Betula pubescens*, *Galium uliginosum* L., *Myosotis scorpioides* L., *Viola epipsida* Ledeb., *V. Palustris* L. Зрідка виявлені *Agrostis stolonifera* L., *Comarum palustre*, *Corallorhiza trifida* Chatel., *Epilobium palustre* L., *Ranunculus lingua* L., *Sparganium minimum* Wallr. Загальна кількість видів у цій групі становить 30.

Гелофіти, які належать до зазначених трьох груп, утворюють флористичне ядро лісоболотних ценозів і є визначальними для болотного середовищетування, видового складу, структури, продуктивності та інших їх властивостей та особливостей [1]. Серед таких видів у першу чергу слід виділити діагностичні види асоціацій *Carici elongatae*-*Alnetum* (*Alnus glutinosa*, *Calthapalustris*, *Carex elongata*, *Iris pseudacorus*, *Filipendula ulmaria*, *Humulus lupulus*, *Impatiens noli-tangere*, *Urtica dioica*, *Solanum dulcamara*, *Athyrium filix-femina*) та *Sphagno squarrosi*-*Alnetum* (*Alnus glutinosa*, *Comarum palustre*, *Carex lasiocarpa*, *C. cinerea*).

Найбільшу кількість (57; 23%) у альнетальному флористичному комплексі становлять індіферентні види. Серед них найбільшу частоту трапляння мають *Alisma plantago-aquatica* L., *Chrysosplenium alternifolium* L., *Cirsium oleracium* (L.) Scop., *Dryopteris carthusiana* (Vill) H.P.

Fuchs, *Eupatorium cannabinum* L., *Ficaria verna* Huds., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Frangula alnus*, *Humulus lupulus*, *Poa palustris* L., *Rumex hydrolapathum* Huds., *Salix pentandra* L., *Urtica dioica* L. Спорадично у заболочених вільшнях зростають *Cirsium palustre* (L.) Scop., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv., *Epilobium palustre* L., *E. roseum* Schreb., *Geum rivale* L., *Glyceria fluitans* (L.) R.Br., *G. maxima* (C.Hartm.) Holub., *Hottonia palustris* L., *Juncus effuses* L., *Lythrum salicaria* L., *Mentha aquatica*, *Myosotis laxa* Lehm., *Myosoton aquaticum* (L.) Moench, *Oenanthe aquatica* (L.) Poir., *Padus avium* L., *Pinus sylvestris* L., *Potentilla erecta* (L.) Raeusch., *Ptarmica cartilaginea* (Ledeb. ex Rchb.) Ledeb., *Ranunculus repens* L., *Ribes nigrum* L., *Stachys palustris* L., *Stellaria nemorum* L., *Symphytum officinale* L., *Viburnum opulus* L. Зрідка трапляються *Angelica sylvestris* L., *Carex remota* L., *Cirsium heterophyllum* (L.) Hill, *C. rivulare* (Jacq.) All., *Coccyganthe flos-cuculi* (L.) Fourr., *Crepis paludosa* (L.) Moench, *Dactylozhiza fuchsii* (Druce) Soó, *Equisetum sylvaticum* L., *Epilobium hirsutum* L., *Euphorbia palustris* L., *Galium rivale* (Sibth. & Smith) Griseb., *Impatiens noli-tangere* L., *Juncus conglomeratus* L., *Matteucia struthiopteris* (L.) Tod, *Phalaroides arundinaceae* (L.) Rausch., *Poa trivialis* L., *Polemonium caeruleum* L., *Ranunculus flamula* L., *Salix triandra* L., *Thalictrum lucidum* L., *Valeriana officinalis* L., *Veronica longifolia* L.

Решта видів досліджуваного флористичного комплексу (91; 43%) потрапили у лісово-болотні місцезростання випадково. Високий відсоток видів цієї групи обумовлений як природними чинниками, так і інтенсивним антропогенним впливом на лісові болота та прилеглі території. Зміна гідрологічного режиму лісових боліт у бік мезофітизації призводить до того, що у ценозі вільхових боліт міркують види з лучних (наприклад, *Alopecurus geniculatus* L., *Lysimachia nummularia* L.) та лісових (*Corylus avelana* L., *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, *Festuca gigantea* (L.) Vill., *Trientalis europea* L.) ценозів, а також узлісь (*Carex pallescens* L., *Melampyrum pratense* L.). Цілоком природним є те, що в обводнених вільшнях часто присутній типовий водний вид *Lemna minor* L., зрідка трапляється *Hydrocharis morsus-ranae* L., а також інші справжньо-водні та прибережно-водні види.

Синантропізація альнетального флористичного комплексу виявляється у інвазіях адвентивних видів у лісовоболотних ценозі. Такими видами є *Bidens cernua* L., *B. Tripartita* L., *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & A. Gray, *Impatiens noli-tangere* L., *I. parviflora* DC, *I. glandulifera* Royle.

Так, інвазійний вид *Impatiens glandulifera* на Лівобережному Поліссі України був помічений за межами культури у 1980-их роках. У 1990-их роках спостерігали, що *I. glandulifera* інтенсивно укорінюється у рудеральних та культурних порушені угрупованнях на перезволожений субстратах поблизу водойм та вздовж водотоків. Нами зафіксовано низку місцезростань цього виду поблизу вільшників на Чернігівщині у Козелецькому, Чернігівському, Ріпкинському, Городнянському, Менському, Щорському, Новгород-Сіверському районах та м. Чернігові. Найчисельнішою і найбільшою за площею (завдовжки близько 2 км, завширшки 10–30 м) є популяція *I. glandulifera* у с. Шептаки Новгород-Сіверського р-ну (висота н.р.м. 168 м, N 52°04', E 33°09'), де вид заселяє евтрофні трав'яні болота, зарості *Salix cinerea* L. та вільшняк у заплаві р. Роми, де інтродуцент зростає у вологому екоотопі з періодичним затопленням, у трав'яному ярусі яких види заболочених лук. На території Нерусо-Деснянського Полісся, де значно менший антропогенний тиск, ніж у інших фізико-географічних районах Східного Полісся, *I. glandulifera* поки що не зафіксовано.

Раритетний компонент [за 2, 4, 5, 12] альнетального флористичного комплексу представлений *Matteucia*

struthiopteris (L.) Tod, *Corallorhiza trifida* Chatel., *Dactyloz-hiza fuchsii* (Druce) Soó, *Sparganium minimum* Wallr.

На території Росії у межах Східного Полісся ценози чорновільхових лісових боліт широко представлені в рослинності заповідника "Брянський ліс" (1108 га) і в його охоронній зоні, а також у ландшафтних заказниках "Деснянсько-Жеренський", "Нерусо-Севний", "Колодязь", "Горемля", "Максимівський", "Скрипкинський", "Князівна", "Будимля" і "Болото Рижуха" (Брянська обл.). На території Гомельської області у межах Східного Полісся природно-заповідні території, де б були представлені ценози з представниками альнетального флористичного комплексу, відсутні.

На Лівобережному Поліссі України місцезростання видів альнетального флороценотичного комплексу охоплені охороною у національному природному парку "Деснянсько-Старогутський" (Сумська обл.), регіональному ландшафтному парку "Міжріччинський", заповідних урочищах "Гніздищанська дача" та "Радомська дача", заказниках загальнодержавного значення (загальнозоологічному "Каморетський" та ландшафтному "Замглай"), гідрологічних заказниках місцевого значення "Кусіївська дача", "Макишинське", "Бондарівське болото", "Видра", "Слобідська дача", "Жуклянсько-Кістерська дача", "Калачівська дача", "Урочище Броди" (Чернігівська обл.).

Висновки. Альнетальний флороценотичний комплекс Східного Полісся нараховує 197 видів судинних рослин. У порівнянні з трав'яними болотами у дослідженому флористичному комплексі значна участь болотних та лісово-болотних видів. Разом з тим у флорі чорновільхових боліт відсутні стенотопні та гемістенотопні види, у зв'язку з

чим вона максимально наближена до флористичних комплексів трав'яних евтрофних боліт. Має місце поповнення компоненту флороценокомплексу за рахунок інвазійних видів. Комплекс не відзначається високим показником флористичної раритетності. Охорона компонентів альнетального флороценотичного комплексу повною мірою забезпечена на природно-заповідних територіях Східного Полісся у межах України та Росії.

1. Григора І.М., Воробйов Є.О., Соломаха В.А. Лісові болота Українського Полісся (походження, динаміка, класифікація). — К., 2005.
2. Державний кадастр рослинного світу України: принципи підготовки та ведення в Чернігівській області / Під заг. ред. Ю.О. Карпенка. — Чернігів, 2003.
3. Евстигнеев О.И., Федотов Ю.П. Конспект флоры сосудистых растений Неруссо-Деснянского физико-географического района // Редкие и уязвимые виды растений и животных Неруссо-Деснянского физико-географического района. — Брянск, 1997.
4. Заповідні скарби Сумщини / Під заг. ред. Т.Л. Андрієнко. — Суми, 2001.
5. Красная книга Брянской области. Растения. Грибы. — Брянск, 2004.
6. Онищенко В.А. Флористична класифікація рослинності Українського Полісся // Фіторізноманіття Українського Полісся та його охорона / Під заг. ред. Т.Л. Андрієнко. — К., 2006.
7. Панченко С.М. Флора національного природного парку "Деснянсько-Старогутський" та проблеми охорони фіторізноманіття Новгород-Сіверського Полісся / За заг. ред. д.б.н. С.Л. Мосякіна. — Суми, 2005.
8. Природно-заповідний фонд Чернігівської області / Під заг. ред. Ю.О. Карпенка. — Чернігів, 2002.
9. Словарь ботанических терминов / Под. общ. ред. И.А. Дудки. — Киев, 1984.
10. Федотов Ю.П. Болота заповідника "Брянский лес" и Неруссо-Деснянского полесья (флора и растительность). — Брянск, 1999.
11. Федотов Ю.П., Евстигнеев О.И. Сосудистые растения заповедника "Брянский лес" / Под ред. С.Р. Майорова. — М., 1999.
12. Червона книга України. Рослинний світ / Під заг. ред. Ю.Р. Шеляга-Сосонка. — К., 1996.
13. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist / Ed. S.L. Mosyakin. — Kiev, 1999.

Надійшла до редколегії 28.03.07

УДК 615.28

О. Радченко, канд. біол. наук, Т. Покровська, студ.

БАКТЕРИЦИДНА ДІЯ БЕНЗАЛКОНІУМ ХЛОРИДУ НА МІКРОФЛОРУ ПІХВИ

Катіонна поверхнево-активна речовина бензалконіум хлорид використовується у якості активного агента у контактних сперміцидних засобах контрацепції, що виробляються в Україні. Показано, що бензалконіум хлорид має виражений бактерицидний ефект як на умовно-патогенні бактерії, так і на нормофлору піхви, а отже, може бути причиною вагінозів у жінок.

Cationic surfactant benzalkonium chloride is used as an active agent in vaginal spermicides, produced in Ukraine. It was shown, that benzalkonium chloride has a distinct bactericide effect both on opportunist pathogen bacteria and normo vaginal flora, and could result to bacterial vaginosis.

Вступ. Мікробна екологія генітального тракту тісно пов'язана з внутрішнім середовищем організму жінок і з особливостями його фізіології. Вагінальна мікрофлора є одним із факторів резистентності макроорганізму до інфекційних хвороб різної етіології, і відіграє важливу роль у підтримці нормального фізіологічного статусу статевої сфери [1].

Найважливіше місце серед представників нормофлори займають молочнокислі бактерії роду *Lactobacillus*, які формують на слизовій оболонці піхви біоплівку [2]. Кількість лактобацил у піхві становить 10^8 – 10^9 кл/мл [3]. Впродовж репродуктивного життя жінки вагінальний епітелій містить глікоген завдяки дії циркулюючих естрогенів. Локальний рівень естрогену є одним з факторів, що впливає на проліферацію і дозрівання вагінального епітелію та синтез глікогену – поживного субстрату для лактобацил [4,5]. Молочнокислі бактерії метаболізують глікоген з утворенням молочної кислоти [4]. Внаслідок синтезу молочної кислоти лактобацилами, середовище піхви стає підкисленим (рН 4–5) [3]. Низький рівень рН вагінального епітелію запобігає розмноженню більшості бактерій [6] і потенційно патогенних дріжджів *Candida albicans* [4]. Лактобацили конкурують з патогенними мікроорганізмами за адгезію на вагінально-

му епітелії [5]. Це яскравий приклад захисної дії мікроорганізмів нормофлори на організм хазяїна [2, 4, 6].

У житті сучасної жінки одне з важливих місць займає питання планування сім'ї та запобігання небажаній вагітності. Для таких цілей існує багато різноманітних засобів контрацепції, серед яких велику нішу займають контактні сперміциди. Активними речовинами у них можуть бути поверхнево-активні сполуки, що мають спермотоксичну дію. Безпечність використання вагінальних сперміцидів для мікрофлори піхви та слизової поверхні епітелію є надзвичайно важливим. Показано, що ці речовини можуть мати суттєвий негативний ефект на вагінальні мікроорганізми. Вони пригнічують ріст представників нормальної мікрофлори, здатні опосередковано викликати бактеріальні вагінози та, за рахунок пошкодження слизової епітелію і захисної мікробної біоплівки, підвищують ризик захворювань, що передаються статевим шляхом [7].

На ринку України представлений широкий спектр контактних контрацептивів у різних формах випуску. Активною речовиною у них виступають бензалконіум хлорид (препарати Еротека, Фарматекс), ноноксінол-9, менфегол та інші. В інструкції з використання вагінальних супозиторіїв Еротека [8], зокрема, вказується, що препарат не

впливає на гормональний фон та нормальну мікрофлору піхви, але має антисептичну та протимікробну дію, яка поширюється на гонококи, хламідії, трихомонади, ентерококи, коринебактерії, стафілококи, гриби кандиди, вірус герпесу, цитомегаловірус та ВІЛ. В одному супозиторії міститься 18,9 мг бензалконіум хлориду.

Метою даної роботи було вивчення впливу бензалконіум хлориду на представників нормальної вагінальної мікрофлори та умовно-патогенні мікроорганізми, наявність бактерицидного ефекту та виживання клітин при різних його концентраціях.

Об'єкти та методи дослідження. У роботі використовували катіонну поверхнево-активну речовину (КПАР) бензалконіум хлорид ("Sigma chemical CO").

Експерименти проводили на культурі *Lactobacillus acidophilus*, виділеної із закваски бактеріальної ацидофільної палички АВ слизької (Технологічний інститут молока та м'яса. Державне дослідне підприємство бактеріальних заквасок. Партія №4 19.09.05.), та штамів бактерій з музею кафедри мікробіології та загальної імунології Київського національного університету імені Тараса Шевченка: *Escherichia coli* УКМ 022, *Alcaligenes faecalis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Candida albicans* ATCC 8856.

Для визначення бактерицидної дії КПАР до суспензії тридобової культури *L. acidophilus* та добових культур інших мікроорганізмів, що містили приблизно 10^8 – 10^9 КУО/мл, додавали бензалконіум хлорид у концентраціях 20–80 мг/л. Концентрацію розраховували за активною речовиною. Час експозиції становив 5–25 хв. при температурі 37°C. КУО/мл підраховували через 72 години інкубації на лактобакагарі та через 24 годин інкубації на МПА при 37°C. Кількість клітин, що вижили, визначали за методом секційних висівів [9]. Виживання обраховували за відношенням N_t/N_0 , де N_t – число бактерій, що вижили, а N_0 – початкова кількість бактерій, що містилася в розчині КПАР [10]. Контрольна суспензія клітин у фізіологічному розчині КПАР не містила.

Для оцінки впливу дезинфектанта на мікроорганізм існує такий емпіричний показник як St [11]. Це добуток концентрації речовини та часу експозиції, при яких гине 99% клітин, тобто 2 lg. Показник St використовується для оцінки ефективності дезинфектантів на один або різні організми; для виявлення впливу факторів довкілля на бактерицидну дію хімічних сполук; для визначення рівня резистентності мікроорганізму до певного бактерициду.

Результати та їх обговорення. На рисунку наведені значення St для усіх досліджуваних культур. Діаграма демонструє рівні чутливості мікроорганізмів по відношенню до бензалконіум хлориду.

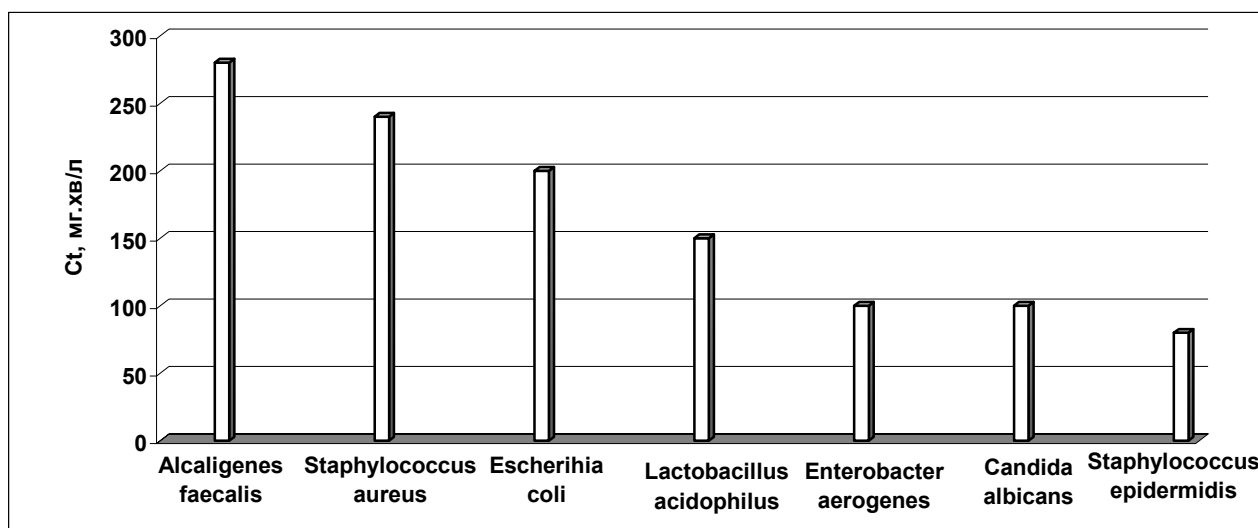


Рис. Бактерицидна дія бензалконіум хлориду

Як видно з рисунку, показник St був найвищим для *Alcaligenes faecalis* (280 мг хв/л), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (240 мг хв/л) та *Escherichia coli* УКМ 022 (200 мг хв/л), тобто ці культури були найменш чутливі до дії бензалконіум хлориду.

Lactobacillus acidophilus займла проміжне місце. Показник St для цієї культури становив 150 мг хв/л.

Найбільшу чутливість до бензалконіум хлориду проявляли *Enterobacter aerogenes* (100 мг хв/л), *Candida albicans* ATCC 8856 (100 мг хв/л) та *Staphylococcus epidermidis* (80 мг хв/л).

Таким чином *Lactobacillus acidophilus* – домінуючий представник нормофлори піхви гине при тих же або й менших концентраціях бензалконіум хлориду, ніж сапрофітні та умовно-патогенні бактерії, представники різних порожнин макроорганізму, у тому числі уrogenітального тракту [2, 4]. Застосування цієї протимікробної речовини у вагінальних контрацептивах може викликати елімінацію з піхви *L. acidophilus*, що буде сприяти безперешкодній адгезії на поверхні слизової оболонки вагіни умовно-патогенних мікроорганізмів, які за відсутності молочнокис-

лих бактерій, здатні ініціювати розвиток бактеріальних вагінозів, грибкових захворювань, тощо. Крім того, відсутність лактобацил може підвищити ризик інфікування хворобами, що передаються статевим шляхом [7].

Висновки. Показано, що катіонна поверхнево-активна речовина бензалконіум хлорид, яка використовується у контактних вагінальних сперміцидних засобах, таких як Еротекс та Фарматекс, має виражену бактерицидну дію на грампозитивні, грамнегативні бактерії та дріжджі роду *Candida*. Чутливість *Lactobacillus acidophilus* до дії КПАР була досить високою, а показник St становив 150 мг хв/л. Застосування засобів контрацепції з бензалконіум хлоридом у якості активного агенту може порушити нормальний фізіологічний та функціональний стан мікрофлори піхви.

1. Подгорский В.С., Лясковский Т.М., Коваленко Н.К., Олещенко Л.Т. Изучение вагинальной и кишечной микрофлоры женщин в предродовом периоде и её коррекции при дисбиотических нарушениях // Микробиол. журн. – 2006. – Т. 68. – № 2. – С. 92–105. 2. Vaginal Flora in Health and Disease in Old Herborn University Seminar Monograph. ed. Heidt P.J., Carter P.B., Rusch V.D. – 1999. – 117 p. 3. Boskey E.R., Telsch K.M.,

Whaley K.J. et al. Acid Production by Vaginal Flora In Vitro Is Consistent with the Rate and Extent of Vaginal Acidification // *Infection and Immunity*. - 1999. - V. 67. - № 10. - P. 5170-5175. 4. Galask R.P. Vaginal colonization by bacteria and yeast // *Am.J.Obstet.Gynecol.* - 1988. - V. 158. - P. 993-995. 5. Ozkinay E., Terek M.C., Yayci M. et al. The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose oestriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections // *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. - 2005. - V. 112. - P. 234-240. 6. Sullivan A., Fianu-Jonasson A., Landgren B. et al. Ecological Effects of Preorally Administered Pivmecillinan on the Normal Vaginal Microflora // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2005. - Vol. 49. - № 1. - P. 170-175. 7. Kirkman R., Chantler E. Contraception and the prevention of sexually transmitted diseases // *Br Med Bull.* - 1993. - 49. - P. 171-181.

8. Інформація для пацієнта з використання препарату Еротекус (листоукладкиш). - Наказ Міністерства охорони здоров'я України 27.10.00 № 270. - Реєстраційне посвідчення № Р. 10.00/02443. 9. Министерство здравоохранения СССР. Приказ № 535 от 22 апреля 1985 г. "Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений". - Москва, 1985. 10. Потапенко Н.Г., Савлук О.С., Иллешенко В.А. Сочетанное действие УФ-излучения ($\lambda=254$ нм) и ионов меди и серебра на выживаемость *E. coli* // *Химия и технология воды* - 1992. - Т. 14. - № 12. - С. 935-40. 11. Youd I.P. Quantity and quality in the diagnosis of urinary tract infection // *Brit. J. Urol.* - 1965. - V. 37. - № 1. - P. 7-12.

Надійшла до редколегії 20.11.06

УДК 576.08

К. Афанасьєва, канд. біол. наук, Т. Шувалова, студ.
М. Зажицька, студ., А. Сиволоб, д-р біол. наук

ШВИДКІСТЬ ВИХОДУ ДНК ПРИ НЕЙТРАЛЬНОМУ ТА ЛУЖНОМУ ЕЛЕКТРОФОРЕЗІ ІЗОЛЬОВАНИХ КЛІТИН

Продemonстровано вплив топологічного стану петельних доменів на швидкість виходу ДНК при нейтральному та лужному кометному електрофорезі ізольованих клітин. Зроблені висновки, що хвіст комети в інтактних клітинах формується розгорнутими петлями ДНК, і що реєстрація кінетики появи комет є необхідним елементом експериментів по кометному електрофорезу.

Effects of the topological state of loop domains on the rate of DNA exit during neutral and alkaline comet assay have been demonstrated. The conclusions have been made that the comet tail of intact cells consists of the extended DNA loops, and that the kinetic measurements have to be a necessary step in the experiments using the comet assay.

Вступ. Кометний електрофорез є зручним і, відповідно, надзвичайно популярним методом оцінки рівня пошкоджень ДНК в окремих клітинах. Сутність методу полягає в тому, що ізольовані клітини заплываються в агарозу на поверхні предметного скла, піддаються лізису з метою видалення мембран та зв'язаних з ДНК білків (при збереженні зв'язку ДНК з ядерним матриксом), після чого здійснюється електрофорез [1-3]. Під дією електричного струму ДНК виходить із клітини та формує зону, що нагадує хвіст комети. Численні експерименти свідчать про те, що вихід ДНК полегшується – а за думкою багатьох авторів, взагалі стає можливим – після дії пошкоджуючих чинників (таких, як, наприклад, іонізуюче випромінювання). Існує два варіанти кометного електрофорезу: у буфері з нейтральним рН (нейтральний електрофорез) та при рН 13 (в умовах денатурації ДНК – лужний електрофорез). Останній варіант вважається більш чутливим і використовується частіше [4].

Незважаючи на популярність методу, на сьогодні немає єдиної думки про те, якою є природа ДНК, що міститься у хвості комети. Найбільш привабливою видається та інтерпретація, що причиною полегшення виходу ДНК є релаксація надспіральных петельних доменів ДНК, закріплених на ядерному матриксі, у результаті одноланцюгових розривів (достатньо одного розриву на петлю). Тобто, хвіст комети – це релаксовані петлі ДНК [1, 5, 6]. Але накопичення одноланцюгових розривів має призводити до появи розривів дволанцюгових – відповідно, у хвості комети можуть міститися також (або тільки) лінійні фрагменти ДНК, що зберігають або втратили зв'язок з матриксом [1, 5, 6].

Іншою проблемою є значна варіабельність результатів, отриманих різними лабораторіями. Більшість дослідників застосовує лужний варіант кометного електрофорезу: оскільки лужне середовище сприяє розривам ДНК в сайтах апуринізації, вважається, що це дозволяє збільшити число типів пошкоджень, які можна детектувати. При цьому використовуються різноманітні комбінації часу інкубації клітин після лізису у лузі (зазвичай від 20 до 40 хв) та часу електрофорезу (від 20 до 60 хв) [3]. Можливо, що саме методична варіабельність призводить до значних розбіжностей у результа-

тах при дослідженнях дії мутагенів та спробах прогнозування деяких захворювань [3].

Наші експерименти були спрямовані на вивчення впливу топологічного стану петельних доменів (при нейтральному електрофорезі) та часу інкубації у лузі (при лужному електрофорезі) на ефективність виходу ДНК. Отримані результати дозволяють, по-перше, вдосконалити методику кометного електрофорезу шляхом реєстрації кінетики виходу ДНК замість використання фіксованого часу електрофорезу. На нашу думку, саме такий підхід є одним зі шляхів стандартизації методу, оскільки знімає питання про вибір того чи іншого часу електрофорезу та дозволяє уникнути хибних висновків. По-друге, ми отримали прямий доказ релаксації петельних доменів як головної причини полегшення виходу ДНК – принаймні, при нейтральному електрофорезі. По-третє, у випадку лужного електрофорезу продемонстровано вплив часу інкубації у лузі на ефективність появи комет. Обговорюються перспективи використання кометного електрофорезу як у його традиційному застосуванні, так і для вивчення деяких фундаментальних питань молекулярної генетики.

Об'єкт та методи досліджень. Для кометного електрофорезу використовували лімфоцити периферичної крові людини. 50 мкл суспензії лімфоцитів змішували зі 100 мкл 1%-го розчину легкоплавкої агарози, 25 мкл суміші наносили на предметні скельця, заправлені в 1%-му розчині тугоплавкої агарози. Отримані слайди витримували 3-5 хв при температурі 4°C і занурювали в лізуючий буфер: 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1% Triton X-100, який додавали безпосередньо перед використанням буфера. Лізис проводили при 4°C не менше двох годин.

Нейтральний електрофорез проводили у TBE буфері (0,089M Tris, 0,089M H₃BO₃, 0,002M EDTA, pH=7,5) у присутності чи відсутності певної невеликої концентрації бромистого етидія (БЕ). Після лізису слайди відмивали електрофоретичним буфером та інкубували в ньому 10 хв.

Лужний електрофорез проводили у 300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH >13. Після лізису слайди інкубували в цьому буфері протягом 10-60 хвилин при 4°C. Після

електрофорезу слайди тричі відмивали у нейтралізуючому буфері (0,4 M Tris-HCl, pH 7,5).

Тривалість електрофорезу становила від 10 до 80 хв. з інтервалом 10 хв. Електрофорез проводили при 4°C, напрузі 1 V/cm та силі струму 300 mA. Препарати фарбували бромистим етидієм та аналізували під флуоресцентним мікроскопом, визначаючи частку комет серед принаймні 100 клітин.

Результати та їх обговорення. Нейтральний електрофорез. У випадку виходу ДНК у хвіст комети після електрофорезу клітини виглядають під флуоресцентним мікроскопом, як показано на рис. 1.

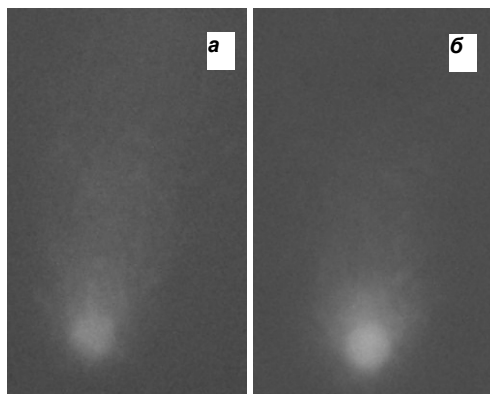


Рис. 1. Приклади клітин із кометами після нейтрального (а) та лужного (б) електрофорезу протягом 30 хв.

Частка клітин із такими хвостами, яку далі будемо називати часткою комет, залежить від тривалості електрофорезу. На рис. 2 представлено цю залежність для двох варіантів електрофорезу – нейтрального (рис. 2а) та лужного (рис. 2б).

У відсутності БЕ частка комет зберігається на низькому рівні до 30 хв електрофорезу, після чого починає зростати і становить практично 100% через 60 хв і більше. У пробному експерименті після рентгенівського опромінення клітин (доза 0,25 Гр) частка комет виходить майже на 100% рівень вже через 30 хв електрофорезу (рис. 2а). Це дозволяє припустити, що ДНК досліджуваних (неопромінених) лімфоцитів, в основному, є інтактною, що й гальмує її вихід при електрофорезі. Проте, при достатньому часі сила струму примушує ДНК формувати комету.

Якщо висловлене припущення щодо інтактності ДНК є справедливим, то хвіст такої комети не може містити нічого, крім петель ДНК, приєднаних кінцями до ядерного матриксу. Крім опору агарози, при виході з клітини такі петлі мають долати власний еластичний опір. Після видалення білків хроматину при лізисі в ДНК залишається негативна надспіралізація, і витягування петлі автоматично створює торсійну напругу негативного знаку – розкручування подвійної спіралі. Отже, можна очікувати, що зняття такого напруження має полегшити вихід комет.

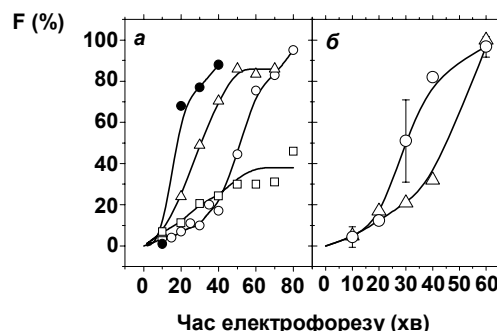


Рис. 2. Кінетика появи комет (F – частка комет) при нейтральному (а) та лужному (б) електрофорезі. (а): При дії рентгенівського опромінення у дозі 0,25 Гр (●) та в інтактних клітинах у відсутності (○) та у присутності $5 \cdot 10^{-5}$ (Δ) та $15 \cdot 10^{-5}$ (□) мг/мл бромистого етидію. (б): Після попередньої інкубації у лужному буфері протягом 10 хв. (Δ) та 20 і 40 хв. (○, середні значення). Точки є середніми значеннями за результатами 2-5 незалежних експериментів

Одним з найпростіших засобів зняти негативне напруження в ДНК є локальна розкрутка подвійної спіралі за рахунок інтерналізації БЕ. Дійсно, у присутності $5 \cdot 10^{-5}$ мг/мл БЕ спостерігається значне прискорення виходу комет за рахунок часткової релаксації петельних доменів (рис. 2а). Подальше зростання концентрації БЕ (і, відповідно, щільності його зв'язування з ДНК) призводить до накопичення позитивних торсійних напружень, які знов гальмують появу комет. Напевно, при концентрації $15 \cdot 10^{-5}$ мг/мл БЕ рівень позитивних напружень стає більшим за абсолютною величиною, ніж вихідний рівень негативних напружень (рис. 2а). Слід зазначити, що наявність описаних ефектів БЕ однозначно свідчить, що ДНК досліджуваних клітин є інтактною: тільки у відсутності розривів ДНК петельного домена характеризується топологічними обмеженнями.

Таким чином, отримані результати однозначно вказують на те, що хвіст комети формується за рахунок випетлювання ДНК, яке значно полегшується за умови релаксації торсійних напружень. З одного боку, це дає можливість оцінки топологічного стану ДНК в ядрах клітин при різних функціональних станах шляхом кометного електрофорезу у присутності БЕ. З іншого – дослідження кінетики появи комет може бути надзвичайно чутливим методом оцінки незначної кількості одноланцюгових розривів.

Лужний електрофорез. Приклади комет після лужного електрофорезу наведені на рис. 1, кінетика виходу комет – на рис. 2б. В цілому швидкість виходу комет, а також їх морфологія, є подібними до таких, що спостерігаються при нейтральному електрофорезі. Отже можна припустити, що і в цьому випадку відбувається випетлювання ДНК. Оскільки денатурація інтактною топологічно замкненої петлі у лужному буфері має призводити до позитивної надспіралізації, значний вихід ДНК свідчить про релаксацію петель. Механізмом релаксації може бути відома індукція лугом одноланцюгових розривів у апуринових сайтах. У відповідності з таким припущенням, збільшення часу інкубації у лужному буфері, яке має підвищити число розривів, призводить до прискорення виходу комет (рис. 2б).

Незалежно від інтерпретації, кінетика появи комет при лужному електрофорезі свідчить про залежність ефективності виходу ДНК від часу попередньої інкубації у лузі. У більшості лабораторій інкубацію здійснюють протягом 20-40 хв. із наступним електрофорезом упродовж ~30 хв. Як видно з рис. 2б, така комбінація

параметрів потрапляє на ділянку різкого зростання швидкості виходу комет, де точність експерименту є найнижчою: чим вищою є швидкість, тим більше проявляються варіації локальної структури агарозного геля від клітини до клітини, від слайда до слайда та від одного експерименту до іншого. Лише шляхом реєстрації кінетики появи комет, принаймні, у кількох контрольних експериментах, можна обрати певні, найкращі для вирішення конкретної задачі параметри проведення кометного електрофорезу.

Висновки. Представлені результати свідчать про те, що головною причиною полегшення виходу ДНК при кометному електрофорезі є релаксація петельних доменів. При цьому кінетика виходу ДНК має досить складний характер, на який впливають параметри проведення експерименту. Зокрема, одним з важливих факторів є час попередньої інкубації клітин у лужному буфері при лужному електрофорезі. Відповідно, реєстрація

кінетики й визначення швидкості появи комет є необхідним елементом експериментів з кометного електрофорезу, що дозволить підвищити чутливість методу та більш адекватно оцінювати рівень пошкоджень ДНК.

1. McNamee J.P., McLean J.R.N., Ferrarotto C.L., Bellier P.V. Comet assay: rapid processing of multiple samples // Mutation Research. – 2000 – Vol. 466. – P. 63–69.
2. Moller P. The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures // Basic and Clinical Pharmacology and toxicology. – 2006 – Vol. 98 – P. 336–345.
3. Kassie F., Parzefall W., Knasmüller S. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies // Mutation Research. – 2000. – Vol. 463. – P. 13–31.
4. Angelis K.J., Dušinska M., Collins A. Single cell gel electrophoresis: Detection of DNA damage at different levels of sensitivity // Electrophoresis. – 1999. – Vol. 20. – P. 2133–2138.
5. Olive P.L. DNA damage and repair in individual cells: applications of the comet assay in radiobiology // Int. J. Radiat. Biol. – 1999 – Vol. 75 – №4. – P. 395–405.
6. Horvathova E., Dušinska M., Shaposhnikov S., Collins A. DNA damage and repair measured in different genomic regions using the comet assay with fluorescent in situ hybridization // Mutagenesis. – 2004. – Vol. 19. – P. 269–276.

Надійшла до редколегії 15.06.07

УДК 612.82/83; 612.821

Н. Філімонова, канд. фіз.-мат. наук, Т. Куценко, канд.біол. наук,
М. Макачук, д-р біол. наук, О. Попова, студ.

ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ ШВИДКОСТІ ЦЕНТРАЛЬНОЇ ОБРОБКИ ІНФОРМАЦІЇ У ДІТЕЙ МОЛОДШОГО ДОШКІЛЬНОГО ВІКУ

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що з метою оцінки психофізіологічних особливостей дітей молодшого дошкільного віку необхідно поводити обстеження як мінімум 3 рази, причому одночасно з найкращими для цієї дитини показниками вказувати і їх розкид. Також показано, що використання показника швидкості центральної обробки інформації дає можливість виявити і оцінити ефективність формування функціональної підсистеми оперативної пам'яті дитини і спрогнозувати можливу варіабельність її стану.

As a result of carried out research it has been established, that with the purpose of an estimation of psychophysiological features of children of younger preschool age it is necessary to spend inspections at least 3 times, and simultaneously with the best for this child parameters to specify and their spread. Also it is shown, that use of a parameter of speed of the central processing of the information enables to reveal and estimate efficacy of formation of a functional subsystem of operative memory of the child and to forecast possible variability of its state.

Вступ. Дослідження психофізіологічного дозрівання дитини на сьогоднішній день є однією з найбільш актуальних проблем вікової психофізіології. При цьому особлива увага приділяється дошкільному віку, бо це є один із важливих критичних періодів розвитку людини, який характеризується високими темпами дозрівання. Однак психофізіологічне дослідження дітей молодшого дошкільного віку є досить складним процесом. Напевне, саме тому на сьогодні їхні психофізіологічні особливості є недостатньо вивченими.

При дослідженні основних психофізіологічних характеристик людини загальноприйнятним є проведення тестування обстежених один раз і формування на основі отриманих даних множини реакцій даної референтної групи [7]. В подальшому аналізі, як правило, з'ясовуються найбільш типові значення цих реакцій і їх розкид. Крім того, часто визначають границі, які розбивають дану множину реакцій на групи низького рівня, середнього та високого. В медицині найбільш вживаним є підхід, за яким визначається діапазон "норми", або референтних границь. При обстеженні окремої людини на підставі значень отриманих показників її відносять до певної групи – до групи з низькими показниками, середніми або високими, або до "норми", чи "нижче" норми, чи "вище" норми. Тобто, на підставі такого аналізу часто роблять висновки про стан окремої людини. Але виникає питання, чи є цей стан типовим для цієї людини? Скільки треба зробити обстежень, щоб з'ясувати, які значення є типовими для окремої людини та який їх розкид? В ідеалі таке дослідження повинно бути довготривалим, що практично є неможливим при вирішенні конкретних задач про профпридатність, готовність до школи і т.п.

Особливо актуальною ця проблема є при аналізі психофізіологічних станів дітей дошкільного віку, оскільки їх психофізіологічні функції ще не є достатньо сформованими і мають певну нестабільність. Тому метою даної роботи було дослідити наскільки великим може бути розкид певних психофізіологічних показників у окремих дітей, особливо швидкості центральної обробки інформації, і тим самим визначити можливий діапазон коливання психофізіологічного стану окремої дитини.

Об'єкт та методи досліджень. Було проведено тестування 27 дітей обох статей віком 4-5 років, які відвідували дитячий садок в м. Полтава. Всі обстеження проводились в один і той же час, з 9.30 ранку до 12 години, після сніданку, коли починались заняття, тобто в період початку бадьорості дітей і до початку втоми (за розкладом після 12 години запланована прогулянка, обід і сон). Цей період виявився найбільш стабільним за показниками навантаження учбовим процесом. Обстеження кожної дитини тривало 20 хв. тестування за трьома показниками. Кожна дитина тестувалась на протязі трьох днів. На початку тестування в перший день кожна дитина отримала невеличкий подарунок в якості заохочення, таким чином надалі діти вже змагалися за право бути першим щоб отримати винагороду, що дозволило максимально підвищити рівень уваги і старанності дітей, а також в якійсь мірі відповідальності. Крім того, велику роль в утриманні уваги дитини відіграло зацікавленість чимось новим (комп'ютерна гра, комп'ютер).

В першому субтесті визначали розвиток короткочасної пам'яті на невербальні стимули (геометричні фігури). Обстежуваному на екрані комп'ютера послідовно пред'являлись 60 груп простих геометричних фігур:

круг, еліпс, квадрат, ромб, та інш., по 2–7 фігур у групі. Час пред'явлення кожної групи фігур – 1,5 с. Через 1 с після того як у верхньому прямокутнику група геометричних фігур згасала, у нижньому прямокутнику з'являлася тестована фігура. Якщо ця фігура була у пред'явленій раніше у верхньому прямокутнику групі, обстежуваний натискав правою рукою на клавішу "/", в протилежному випадку натискав лівою рукою клавішу "z" в латинському регістрі. Після кожної серії з 2-7 фігур, була можливість відпочити, а подовження субтесту здійснювалось натисканням клавіші пробіл. Час проведення тестування складав біля 10 хв. В результаті визначали латентний період (ЛП/мс) реакцій в субтесті, ЛП для 2–7 груп геометричних фігур, ЛП правої та лівої руки для 2–7 груп фігур, ЛП вірних та помилкових реакцій правої та лівої руки для 2–7 груп фігур, сумарну кількість помилок (КП), кількість помилок загальну, та для правої і лівої рук окремо для 2–7 груп фігур.

В другому субтесті проводилось обстеження простої сенсомоторної реакції дитини. Обстежуваному на екрані комп'ютера послідовно пред'являлося зображення – 100 квадратів, на появу кожного з яких він мусив якомога швидше натиснути будь яку клавішу. При цьому визначали швидкість простої сенсомоторної реакції (ПСМР/мс) як середнє значення 100 вимірів ЛП [5]. Зазначимо, що реагуючи на подразник, діти можуть змінювати в процесі тестування як пальці, так і руки. На заборону подібних змін діти реагують дуже емоційно, іноді навіть відмовляються продовжувати тестування, тому при обстеженні м'яко, але наполегливо приходилось наголошувати на виконанні інструкції. Всім дітям надавався вільний вибір руки, якою треба натискати на клавіші, однак всі обрали праву руку, тобто можна припустити, що всі діти були праворукі.

В третьому субтесті проводилось обстеження реакції вибору дитини. Аналогічно, як і в другому субтесті, обстежуваному на екрані комп'ютера послідовно у випадковому порядку пред'являлись зображення 50 квадратів та 50 трикутників. Якщо на екрані з'являвся квадрат, то обстежуваний натискав правою рукою на клавішу "/", якщо трикутник, обстежуваний натискав лівою рукою клавішу "Z" в латинському регістрі. Визначали середню швидкість реакції вибору (РВ/мс), середню швидкість реакції вибору для правої руки (РВП/мс) та середню швидкість реакції вибору для лівої руки (РВЛ/мс) як відповідні середні значення з 50 вимірювань [5]. Перш ніж пройти цей тест, дітям дозволялось тренуватись у натисканні на клавіші до тих пір, поки вони не звикли не дивлячись на клавіатуру правильно натискати відповідну клавішу. В тому випадку, коли дитина затримувала палець на одній з клавіш, надходив звуковий сигнал і дитині вказували, що після натискання клавішу треба відпускати.

Результати та їх обговорення. Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA, 2001). Нормальність розподілів змінних перевірялась тестом Ліліфора (критерій D), який є модифікацією тесту Колмогорова – Смірнова. Оскільки розподіл практично всіх параметрів за критерієм Ліліфора був відмінний від нормального ($p < 0,05$), для порівняння двох незалежних груп використовували критерій Мана – Вітні (критерій U), для множинного порівняння незалежних груп було використано ранговий дисперсійний аналіз Крускала-Воліса (критерій H), для порівняння двох залежних вибірок було застосовано критерій Вілкосона (критерій T), а для множинного порівняння залежних груп було використано ранговий дисперсійний аналіз Фрідмана (критерій F). Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез прийма-

вся рівним $p = 0,05$. Для параметрів, які мали розподіл відмінний від нормального, для опису вибіркового розподілу вказували Me [25; 75] (Me – медіана; 25 и 75 – нижній і верхній квартилі), для нормально розподілених показників – центральна тенденція оцінювалась середнім значенням M, а розкид – середнє квадратичним відхиленням s [6].

Поведінкові реакції людини базуються на процесах прийняття рішень, в яких вирішальну роль відіграють швидкісні характеристики процесів переробки інформації людиною [3, 4]. При дослідженні функціонального стану нервової системи як базовий елемент виступають латентні періоди простих сенсомоторних реакцій, оскільки саме їх розглядають як показник збудливості центральної нервової системи [4]. Порівнюючи між собою реакцію вибору та просту сенсомоторну реакцію, слід звернути увагу на принципові відмінності в цих двох реакціях. Так, реакція вибору, на відміну від простої сенсомоторної реакції, потребує не тільки сприйняття сигналу та стереотипної реакції на нього, але і складних процесів ідентифікації сигналу, які завершуються вибором відповідної реакції. Вважалося, що час реакції вибору закономірно збільшується із збільшенням кількості альтернативних стимулів. Однак уже в класичних дослідженнях було показано, що тренування, або життєва практика сприяють тому, що час реакції при багатальтернативному виборі поступово зменшується і стає майже постійним і перестає залежати від кількості альтернативних ситуацій, які застосовуються в тому або іншому досліді. Встановлено також, що після тривалого тренування час такої реакції приблизно дорівнює часу реакції при застосуванні лише двох альтернативних стимулів (часу диз'юнктивної реакції) [3]. На основі цього можна стверджувати, що саме диз'юнктивна реакція є базовою характеристикою реакції вибору. Доведено [3], що при здійсненні реакції вибору в загальній швидкості її здійснення найбільша затримка часу відбувається саме в центральній ланці, де власне і відбуваються самі процеси вибору. Тому можна стверджувати, що реакція вибору загалом характеризує час центрального перемикання і пов'язана з швидкістю руху нервових процесів в центральній нервовій системі (ЦНС). Саме тому, швидкість центральної обробки інформації практично визначається, як різниця часових значень реакції вибору та простої сенсомоторної реакції [2, 4], або як їх співвідношення [5].

Для різних днів обстежень індивідуальний розкид показників ПСМР складав – найменший: 360 мс – 409 мс, а найбільший: 621 мс – 1010 мс, для РВ – найменший: 787 мс – 820 мс, а найбільший: 992 мс – 1802 мс, причому більша стабільність ПСМР не обов'язково відповідала більшій стабільності РВ, і навпаки. Тому ми визначили швидкість центральної обробки інформації як коефіцієнт центрального перемикання $K = \text{ПСМР} / \text{РВ}$. Коефіцієнт K є нормально розподіленим ($D = 0,055$; $p > 0,20$) з $M = 0,681$ і $s = 0,186$, тому за [7] можна вважати діапазон $M \pm s$ відносною "нормою". Ми поділили за цим показником всі обстеження дітей на 3 підгрупи: 1 підгрупу склали ті обстеження, де коефіцієнт $K = \text{ПСМР} / \text{РВ}$ був менший за 0,495; у 2-й підгрупі K знаходився у межах 0,495 – 0,867, а в 3-й підгрупі K був більший, ніж 0,867. Після чого ми поставили за мету з'ясувати, чим відрізняються між собою стани дітей з різних підгруп, і чи є такі стани стабільними, тобто чи знаходиться коефіцієнт K в певній підгрупі для всіх днів обстежень, тобто чи є цей показник стабільною індивідуальною характеристикою дитини.

Ми застосували мікроструктурний підхід до аналізу отриманих показників розвитку короткочасної пам'яті на

геометричні фігури, при цьому аналізувались ЛП не тільки вірних реакцій, а також і помилкових, оскільки процес допущення помилок може відображати роботу системи уваги.

Тільки для 2 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП для різної кількості стимулів: $F(5,342) = 3,62$, $p = 0,003$; ЛП правої руки – $F(5,342) = 3,34$, $p = 0,006$ і ЛП лівої руки $F(5,342) = 2,86$, $p = 0,01$, тобто існує значуща залежність вказаних ЛП від кількості стимулів, тобто можна стверджувати, що тільки 2 підгрупа станів характеризується наявністю певної функціональної підсистеми для виконання завдання, складність якого впродовж тесту збільшується.

Для 1 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП вірних реакцій для різної кількості стимулів $F(5,48) = 1,14$, $p = 0,35$; ЛП помилкових реакцій – $F(5,48) = 0,75$, $p = 0,59$, тобто відсутня залежність цих ЛП від кількості стимулів.

Для 2 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП вірних реакцій для різної кількості стимулів: $F(5,342) = 5,57$, $p = 0,001$; ЛП помилкових реакцій – $F(5,342) = 1,74$, $p = 0,13$, тобто існує значуща залежність саме ЛП вірних реакцій від кількості стимулів.

Для 3 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП вірних реакцій для різної кількості стимулів: $F(5,78) = 1,43$, $p = 0,22$; ЛП помилкових реакцій – $F(5,78) = 0,76$, $p = 0,58$, тобто відсутня залежність цих ЛП від кількості стимулів.

Таким чином, проведений аналіз свідчить, що функціональна підсистема орієнтована саме на вірні відповіді, а помилкові є наслідком певної дезорганізації системи.

Для 1 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП вірних реакцій правої руки для різної кількості стимулів не виявлено значущої залежності цих ЛП від кількості стимулів.

Для 2 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП вірних реакцій правої руки для різної кількості стимулів: $F(5,342) = 4,85$, $p = 0,001$; ЛП вірних реакцій лівої руки: $F(5,342) = 3,12$, $p = 0,01$; відсутня загальна залежність ЛП помилкових реакцій правої руки від кількості стимулів: $F(5,342) = 2,06$, $p = 0,07$, але для ЛП помилкових реакцій лівої руки: $F(5,342) = 7,59$, $p = 0,001$. Тобто вірні реакції як правої, так і лівої руки значущо залежать від кількості стимулів. При цьому ЛП вірних реакцій правої руки значущо зменшуються для 2 та 3 стимулів 1333 [1080; 1813] мс і 992 [567; 1443] мс (за критерієм Вілкоксона $p < 0,001$). Крім того, для ЛП помилкових реакцій правої руки спостерігається лише зменшення ЛП від 3-х до 4-х стимулів 1271 [830; 2310] мс і 1162 [508; 1810] мс (за критерієм Вілкоксона $p < 0,05$), а потім збільшення ЛП від 4-х до 5-ти [1377 [720; 2033] мс) стимулів (за критерієм Вілкоксона $p < 0,05$). Існує також загальна значуща залежність ЛП помилкових реакцій лівої руки від кількості стимулів, при чому зміни ЛП відбуваються хвилеподібно: різко зменшуючись від 2-х до 3-х подразників, ЛП збільшуються для 4-х і 5-ти, а потім знов зменшуються для 6-ти та 7-ми стимулів (відповідні 1374 [850; 2130] мс, 1154 [650; 1790] мс, 1327 [767; 2067] мс, 1351 [770; 2005] мс, 1067 [755; 1723] мс, 944 [644; 1430] мс).

Для 3 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння ЛП вірних реакцій правої руки для різної кількості стимулів: $F(5,78) = 0,33$, $p = 0,89$; ЛП вірних реакцій лівої руки: $F(5,78) = 2,55$, $p = 0,03$; ЛП помилкових реакцій правої руки: $F(5,78) = 1,30$, $p = 0,27$ і ЛП помилкових реакцій лівої руки: $F(5,78) = 1,50$, $p = 0,20$, тобто існує значуща загальна залежність тільки ЛП вірних реакцій лівої руки від кількості стимулів. Крім того, ЛП помилкових реакцій правої руки різко зменшуються

від 5-ти до 6-ти стимулів: з 1960 [1378; 3020] мс до 895 [470; 2517] мс (за критерієм Вілкоксона $p < 0,05$), що свідчить про "скидання" тесту, реакція стає більш випадковою, а не обміркованою.

Таким чином, можна стверджувати, що тільки для 2 підгрупи обстежень характерна певна організація процесу обробки інформації як в правій, так і в лівій півкулях, а для 3 підгрупи – тільки в правій півкулі.

Для 1 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння загальної КП: $F(5,48) = 2,48$, $p = 0,04$; КП правої руки: $F(5,48) = 0,67$, $p = 0,65$ і КП лівої руки: $F(5,48) = 0,68$, $p = 0,64$, тобто існує залежність загальної КП від кількості стимулів, хоча подібна залежність для правої та лівої руки відсутня, тобто джерело здійснення помилок не латералізоване.

Для 2 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння загальної КП: $F(5,342) = 5,72$, $p = 0,001$; КП правої руки: $F(5,342) = 3,46$, $p = 0,01$ і КП лівої руки: $F(5,342) = 1,40$, $p = 0,22$, тобто існує залежність загальної КП та КП правої руки від кількості стимулів, хоча подібна залежність для лівої руки відсутня. Крім того, загальна КП значущо збільшується від 2-х до 3-х стимулів (за критерієм Вілкоксона $p < 0,001$) і збільшується кількість помилок саме правої руки від 2-х до 3-х стимулів (за критерієм Вілкоксона $p < 0,01$), тобто помилковість обробки геометричної інформації саме в лівій півкулі призводить до здійснення помилок.

Для 3 підгрупи за критерієм Фрідмана множинного порівняння загальної відсутня значуща залежність загальної кількості помилок та помилок правої та лівої руки від кількості стимулів. Зазначимо, що кількість помилок лівої руки значущо зменшується від 6-ти до 7-ми стимулів (за критерієм Вілкоксона $p < 0,05$).

Дослідимо відмінності в реакціях між лівою і правою руками в кожній з підгруп. В 1 підгрупі ЛП помилкових реакцій правої руки на 3 стимули значуще більші 2067 [1720; 2900] мс ніж для лівої 1373 [1263; 2030] мс ($T=5$; $p=0,038$); ЛП вірних реакцій на 6 стимулів значуще відрізняються для правої 1180 [715; 2060] мс і лівої 1195 [0; 1438] мс рук ($T=3$; $p=0,020$). Зазначимо, що те, що нижній кuartиль дорівнює 0 мс, свідчить, що дитина не відпускала палець лівої руки з клавіатури, тобто 6 стимулів є критичними для правої півкулі. В 2 підгрупі КП правої руки значущо менша 2 [1; 2] ніж для лівої 2 [1; 3], КП на 2 стимули ($T=245$; $p=0,027$) і на 7 стимулів: 2 [1; 3] КП для правої руки і КП для лівої 3 [2; 5] ($T=398$; $p=0,050$). В 3 підгрупі ЛП помилкових реакцій правої руки на 2 стимули значущо більші 1730 [1153; 2802] мс ніж для лівої 1286 [0; 1758] мс ($T=19$; $p=0,035$) і ЛП правої руки на 5 стимулів значущо більші 1633 [1123; 2130] мс ніж для лівої 1014 [732; 1305] мс ($T=10$; $p=0,013$).

Крім того, за критерієм множинного порівняння Крускала-Воліса було співставлено всі три підгрупи обстежень за реакціями правої і лівої рук, тобто було досліджено наявність впливу швидкості центральної обробки інформації на вказані показники. Так, існує значуща залежність ЛП вірних реакцій правої руки на 4 стимули від підгрупи ($H(2, N=81) = 8,18$; $p = 0,017$), тобто від швидкості центрального перемикання: найшвидші реакції – в 2 підгрупі 896 [567; 1345] мс, а найдовші – в 3-й: 1503 [870; 1785] мс, в 1 підгрупі 1473 [1017; 1580] мс. Аналогічна залежність виявлена і для ЛП помилкових реакцій правої руки на 4 стимули ($H(2, N=81) = 6,35$; $p = 0,042$): найшвидші вони в 2 підгрупі 1162 [508; 1810] мс, а найдовші – в 3-й: 2030 [1024; 3005] мс, в 2-й – 1760 [0; 2310] мс. Також виявлена відмінність між групами для ЛП помилкових реакцій правої руки на 5 стимулів ($H(2, N=81) = 6,41$; $p = 0,041$), для 1 підгрупи – 1153 [770; 1735] мс, для 2 – 1377 [720; 2033] мс, для 3 –

1960 [1378; 3020] мс. Це вказує на те, що саме ЛП реакцій правої руки на 4 стимули і ЛП помилкових реакцій правої руки на 5 стимулів є залежними від швидкості центральної обробки інформації (Рис.1).

Також, за критерієм Крускала-Воліса було досліджено наявність впливу швидкості центральної обробки інформації на ПСМР ($H(2, N=81)=12,65; p=0,002$) (для 1 підгрупи – 517 [469; 717] мс, для 2 – 685 [575; 838] мс, для 3 – 912 [782; 1037] мс) і на РВЛ ($H(2, N=81)=8,44; p=0,015$) (для 1 підгрупи – 1461 [997; 1615] мс, для 2 – 1041 [877; 1234] мс, для 3 – 877 [780; 1084] мс) за рахунок наявності впливу на РВП ($H(2, N=81)=8,36; p=0,015$) (для 1 підгрупи – 1307 [1090; 1428] мс, для 2 – 1031 [880; 1204] мс, для 3 – 940 [859; 1118] мс), бо на РВП вплив відсутній ($H(2, N=81)=5,55; p=0,062$) (для 1 підгрупи – 1792 [1031; 2089] мс, для 2 – 1152 [958; 1278] мс, для 3 – 952 [781; 1249] мс) (рис. 1/).

Проведений кореляційний аналіз показав, що найменша кількість кореляційних зв'язків в 1 підгрупі – 14. Найбільш цікавими є взаємозв'язки коефіцієнта К з загальною КП $r_s = 0,83$ ($p = 0,006$), ЛП лівої руки на 2 стимули з РВП $r_s = -0,667$ ($p = 0,049$) та КП на 4 стимули з РВ $r_s = -0,69$ ($p = 0,040$).

Найбільша кількість кореляційних зв'язків спостерігалась в 3 підгрупі – 60, найбільш значущі з яких – ЛП вірних реакцій на 2 стимули з РВП: $r_s = -0,552$ ($p = 0,041$); ЛП помилкових реакцій правої руки на 2 стимули з РВП: $r_s = -0,827$ ($p = 0,000$); ЛП помилкових реакцій правої

руки на 3 стимули з РВП: $r_s = -0,720$ ($p = 0,004$); ЛП помилкових реакцій на 3 стимули з РВП: $r_s = -0,714$ ($p = 0,004$); ЛП вірних реакцій лівої руки на 4 стимули з РВ: $r_s = -0,561$ ($p = 0,037$); ЛП лівої руки на 4 стимули з РВП: $r_s = -0,776$ ($p = 0,001$); ЛП вірних реакцій лівої руки на 6 стимулів з РВ: $r_s = -0,584$ ($p = 0,028$); ЛП помилкових реакцій лівої руки на 6 стимулів з РВ: $r_s = -0,543$ ($p = 0,045$); ЛП вірних реакцій правої руки на 7 стимулів з РВП: $r_s = -0,600$ ($p = 0,023$); ЛП помилкових реакцій правої руки на 7 стимулів з РВП: $r_s = -0,725$ ($p = 0,003$) і, взагалі, при підвищенні складності завдання спостерігаються наступні взаємозв'язки: ЛП на 3 стимули з РВП $r_s = -0,543$ ($p = 0,045$); ЛП на 4 стимули з РВП $r_s = -0,578$ ($p = 0,030$); ЛП на 6 стимулів з РВ $r_s = -0,670$ ($p = 0,009$); ЛП на 7 стимулів з РВП $r_s = -0,613$ ($p = 0,020$).

2 підгрупа за кількістю кореляційних зв'язків займає проміжне місце – 27. Наявність наступних кореляційних зв'язків вказує на функціональну підсистему при обробці геометричних стимулів обсягом до 5 одиниць: КП лівої руки на 2 стимули з РВП $r_s = 0,309$ ($p = 0,018$); ЛП вірних реакцій лівої руки на 2 стимули з РВ $r_s = 0,320$ ($p = 0,014$); ЛП лівої руки на 3 стимули з РВП $r_s = 0,267$ ($p = 0,043$); ЛП помилкових реакцій на 3 стимули з РВЛ $r_s = 0,261$ ($p = 0,048$); ЛП вірних реакцій лівої руки на 4 стимули з РВ $r_s = 0,253$ ($p = 0,055$); ЛП лівої руки на 5 стимулів з РВ $r_s = 0,257$ ($p = 0,052$); ЛП на 3 стимули з РВ $r_s = 0,302$ ($p = 0,021$); ЛП на 4 стимули з РВЛ $r_s = 0,262$ ($p = 0,047$).

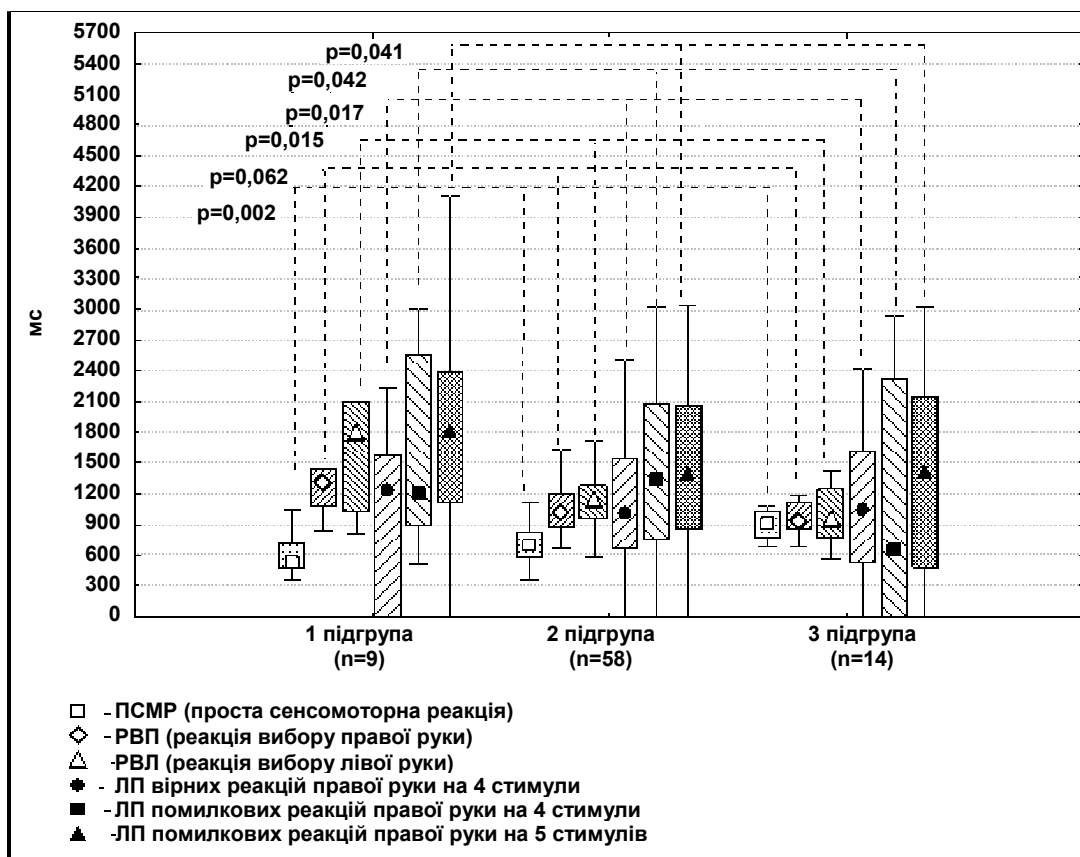


Рис. 1. Вплив швидкості центральної обробки інформації на досліджувані показники (за критерієм множинного порівняння Крускала-Воліса), Me [25%, 75%], min – max, мс

Отримані результати свідчать, що в 1 підгрупі недостатньо сформована функціональна підсистема, яка має за мету запам'ятовування геометричної інформації, її розпізнавання, класифікацію і наступне прийняття рішення про належність окремих фігур до пред'явленої

раніше групи фігур. Можна тільки вказати, що 4 стимули є критичною кількістю для станів дітей цієї підгрупи. Наявність найбільшої кількості кореляційних зв'язків в 3 підгрупі вказує на найбільш жорстку функціональну підсистему, яка зберігається навіть при підвищенні

складності завдання до 7 стимулів. Найбільш гнучка і адекватна поставленій задачі функціональна підсистема спостерігається в 2 підгрупі.

На підставі проведеного аналізу можна стверджувати, що у дітей 4–5 років ще не є завершеними процеси формування окремих підсистем обробки інформації. Для найбільш "нормальних" станів дітей характерним є те, що при середній швидкості центрального перемикання відбувається найкраща збалансованість регуляторних механізмів нервової системи. У них виявлено найкоротші латентні періоди реакції правої руки при тестуванні короткочасної пам'яті, що може бути проявом вищого рівня дозрівання у цих дітей лівої півкулі і швидших темпів становлення дорослого типу мислення. Відмінності часу помилкових реакцій правої і лівої руки свідчать про локалізацію центрального процесора оперативної пам'яті у дітей уже цього віку в лівій півкулі. В 2-й підгрупі ЛП вірні реакції як правої, так і лівої руки значущо знижуються при збільшенні кількості стимулів. В 2 підгрупі порівняно з 1-ю та 3-ю виявлено більш швидкі вірні та помилкові реакції правої руки на 3–5 стимулів. Крім того, в 2-й підгрупі робили менше помилок порівняно з 3-ю підгрупою на 2 стимули, що свідчить про більш високий початковий рівень концентрації уваги.

Відхилення від "нормальних" станів в сторону менших значень К (повільна швидкість центрального перемикання: найкоротший латентний період простої сенсомоторної реакції і найдовший латентний період реакції вибору) характеризується відсутністю організації інформаційних процесів. Виявлено недостатню активізацію правої півкулі, що проявляється у збільшенні РВ лівої руки, зменшенні швидкості центрального перемикання, збільшенні ЛП вірних реакцій лівої руки на 5 стимулів порівняно з 2 підгрупою. Крім того, виявлено залежність ЛП правої руки від кількості стимулів (4–6) при відсутності аналогічної для лівої руки, що свідчить про недостатню регуляторну роль правої півкулі.

Відхилення від "нормальних" станів в сторону більших значень К (висока швидкість центрального перемикання: найдовший латентний період простої сенсомоторної реакції, який за тривалістю майже не відрізняється від латентного періоду реакції вибору) характерно для правопівкульної домінантності в регуляції процесів переробки інформації – можливо, це постійне "проговорювання" тестових завдань і відповіді "так" чи "ні" (рис. 1). Виявлений характер наростання кількості помилок може свідчити про об'єм короткочасної пам'яті у межах чотирьох одиниць. ЛП вірних реакцій лівої руки значущо залежить від кількості стимулів, що свідчить про наявність впливу саме правої півкулі на вірні відповіді. Порівняно з 1-ю підгрупою обстежень ЛП вірних реакцій лівої руки є швидшою на 5 стимулів, а КП лівої руки менша на 2 стимули, тобто права півкуля в обстеженнях 3-ї підгрупи більш активована порівняно з 1-ю підгрупою. Крім того, порівняно з 1-ю підгрупою ЛП помилкових реакцій правої руки повільніша на 5 стимулів і кількість помилок правої руки більше на 2 стимули, що вказує на недостатній початковий рівень активації лівої півкулі, але подальшої швидкої її впрацьованості. Зазначимо також, що РВ обох рук є більш швидкою для

3-ї групи порівняно з 1-ю, а ПСМР є найбільш довшою саме в 3-й підгрупі серед усіх інших.

Нагадаємо, що ми виділяли підгрупи обстежень, а кожна дитина проходила обстеження 3 рази. Тому постає питання – наскільки стійкими є ці стани, тобто наскільки стійкими є виявлені функціональні зв'язки. Найбільш стабільним є стан 2-ї групи, 44% (12/27) дітей всі три обстеження туди попали, чого не було ні з 1-ю, ні з 3-ю групами. Випадок, коли 2 рази попали в 2 підгрупу і 1 раз в 3 підгрупу – 22% (6/27), а 2 рази в 3 підгрупу і 1 раз в 2 – 11% (3/27), тобто взаємозв'язок центрального перемикання з показниками пам'яті не є стабільним, причому ця нестабільність – за рахунок невизначеності право-лівопівкульної реакції на геометричні фігури (можливо за рахунок більшої вербалізації формування відповіді). Випадок, коли 2 рази обстеження попало в 1 підгрупу і 1 раз в 2 – тільки 2 з 27 (7%), а в 3-ю – тільки 1 з 27 (4%), і навпаки, випадок, коли 2 рази обстеження попало в 2 підгрупу і 1 раз в 1 підгрупу – тільки 2 з 27 (7%), а 2 рази в 3 підгрупу і 1 раз в 1-у – 0%, тобто варіабельність станів в цьому напрямку менш виражена, що свідчить про переважно або право-, або лівопівкульну домінантність, причому наявність лівопівкульної домінантності є більш жорсткою.

Висновки. В результаті проведеного дослідження 27 дітей обох статей віком 4-5 років (81 обстеження) було виявлено певну варіабельність станів кожної окремої дитини. Заміна показників трьох обстежень їх середніми значеннями може викривити реальну ситуацію і створити ілюзію непритаманного насправді цієї дитини стану. Вибір тільки одного обстеження, який дослідник з якихось міркувань може вважати "кращим", також може викривити інформацію про реальний стан дитини, оскільки відомо, що деякі діти можуть досить сильно змінювати свою поведінку впродовж навчання, що знижує можливості прогнозу здатності дитини до навчання тільки за одним обстеженням. Виходячи з отриманих результатів можна стверджувати, що з метою оцінки психофізіологічних особливостей дітей необхідно поводити обстеження як мінімум 3 рази, причому одночасно з найкращими для цієї дитини показниками вказувати і їх розкид. Також показано, що використання показника швидкості центральної обробки інформації дає можливість виявити і оцінити ефективність формування функціональної підсистеми оперативної пам'яті дитини і спрогнозувати можливу варіабельність її стану.

1. Власов В.В. Введение в доказательную медицину. – М.: Медиа Сфера, 2001. – 392 с. 2. Гиппенрейтер Ю.П. Опыт экспериментального исследования работы зрительной системы наблюдателя // Инженерная психология. Под ред. Леонтьева А.Н. – М.: Изд-во МГУ, 1964. – С. 192–230. 3. Леонтьев А.Н., Кринчик Е.П. Переработка информации человеком в ситуации выбора // Инженерная психология. Под ред. А.Н. Леонтьева. – М.: Изд-во МГУ, 1964. – С. 295–325. 4. Макаренко Н.В. Теоретические основы и методики профессионального отбора военных специалистов // НИИ проблем военной медицины Украинской военно-медицинской академии. – Киев, 1996. – 336 с. 5. Макачук М.Ю., Філімонова Н.Б. Пропорція золотого перетину в здійсненні сенсомоторної реакції та реакції вибору як психофізіологічна характеристика здатності до обробки інформації в ЦНС людини // Фізика живого. – 2003. – Т. 11. – № 2. – С. 5–13. 6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с. 7. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. – М.: Медиа Сфера, 1998. – 352 с.

Надійшла до редколегії 12.03.07

ВМІСТ ЦИНКУ У КЛІТИНАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЗА УМОВ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ

Досліджено вміст цинку у клітинах слизової оболонки шлунка щурів за умов холодового стресу. Встановлено зниження показника відразу після стресу та на п'яту добу після цього. Введення омепразолу – інгібітора протонної помпи – не призводило до нормалізації вмісту цинку.

Zinc content in gastric mucosa cells of rats under cold stress was studied. It was established a decrease in the parameter immediately after stress and after five days. Treatment with omeprazole, a proton pump inhibitor, did not lead to normalization of zinc content.

Вступ. Цинк – мікроелемент, необхідний у кількості менше ніж 100 мг/добу, який приймає велику участь у процесах росту та репродукції усіх вищих рослин та тварин, включаючи людину. Цей елемент відіграє важливу роль у фотосинтезі, біосинтезі білку, стабілізації ДНК, експресії генів, фертильності та дозріванні сім'я, а також сприяє захисту проти різних захворювань [3, 9].

Первинне всмоктування екзогенного цинку відбувається у дванадцятипалій та тонкій кишці. Вільні форми цинку комплексують з такими лігандами, як амінокислоти, фосфати, та інші органічні кислоти, і у такому вигляді адсорбуються легше. Інозитолгексафосфати та пентафосфати зв'язують цинк, формуючи слабorozчинні комплекси та зменшуючи адсорбцію цинку. Залізо та кадмій також мають несприятливий вплив на поглинання цинку. У клітині цинк перебуває у зв'язаному з білком стані у вигляді металотіонеїнів – консервативних протеїнів з 60–68 амінокислотних залишків, 20 з яких – залишки цистеїну. Одна молекула білку здатна зв'язувати сім йонів цинку. Система металотіонеїн/тіонеїн регулює гомеостаз цинку. Так, підвищення концентрації цинку індукуює синтез тіонеїну, якщо вміст цинку низький, він вивільнюється з металотіонеїнового комплексу. В умовах оксидативного стресу вивільнення біологічно інертного йону цинку призводить до зв'язування сульфгідрильних груп тіонеїну з оксидантом. Показано, що пара металотіонеїн/тіонеїн має більшу антиоксидантну здатність, ніж глутатіонова система та альбумін [1, 3].

Цинк є каталітично необхідною складовою більш як 300 ферментів, включаючи лужну фосфатазу, алкогольдегідрогеназу, Cu-Zn супероксиддисмутази та карбоангідразу. Zn-металоензими каталізують важливі біохімічні реакції, та представлені в усіх класах ферментів, включаючи оксидоредуктази, трансферази, гідролази, ізомерази та лігази. Крім того, цинк здійснює захист проти ультрафіолетіндукованого апоптозу та знижує ураження ДНК, функціонуючи як антиоксидант. Антиоксидантні властивості препаратів цинку досліджені при II типі діабету, цинк може запобігати генерації вільних радикалів та оксидативному стресу, а також слугувати поверхневим фотопротектором для шкіри [9].

З хронічними цинкодефіцитними станами пов'язані: анемії, патології опорно-рухового апарату (остеопороз, захворювання суглобів), ураження шкіряного та волосного покривів (дерматити, трофічні виразки, уповільнення процесів загоєння), розлади травлення (діарея, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки, виразковий коліт, гепатити, панкреатити), імунологічні порушення (вторинні імунодефіцити, лімфаденопатії, важкий перебіг хронічних вірусних та бактеріальних інфекцій), захворювання сечостатевої системи, порушення розвитку (неонатальні вади, затримка росту, розумового та статевого розвитку), порушення функціонування нервової системи (відсутність апетиту, погіршення смакової, зорової та нюхової чутливості, галюцинації, порушення функцій гіпофізу, зміни психіки, емоційні розлади, агресив-

ність, зниження уваги, пам'яті та працездатності, втома, апатія, депресія, шизофренія, епілепсія, неврологічні розлади), цукровий діабет [1, 3]. У гризунів та людини дефіцит цинку пов'язаний зі зниженням рівня лептину, таким чином, регулюючи інтенсивність метаболізму [9].

З епідеміологічних досліджень відомо, що нестача цинку може бути пов'язана з підвищеним ризиком онкозахворювань [9]. З іншого боку, цинк є антагоністом селену – складової частини глутатіонпероксидази. Таким чином, антагоністична дія цинку зменшує або відміняє антиканцерогенну дію селену. У простаті концентрація цинку на порядок вища, ніж у інших м'яких тканинах. Фізіологічні концентрації цинку сповільнюють ріст андроген-чутливих та нечутливих ракових тканин простати, підвищуючи клітинну загибель та некроз [9].

У літературі показано, що вміст цинку у сироватці крові за умов гастродуоденальних патологій знижується як у фазі загострення, так і у фазі ремісії. Введення препаратів, спрямованих на корекцію метаболічних порушень, не сприяє нормалізації вмісту мікроелементу. Встановлені порушення можуть зумовлювати тривале, навіть несприятливе протікання хронічної гастродуоденопатії і бути причиною частого рецидивування [4].

Відомо, що у патогенезі виразкової хвороби ШКТ одним з найважливіших етіологічних факторів виділяють стресовий вплив. Гостра або хронічна дія стресового фактору призводить до локальної ішемії слизової оболонки ШКТ, індукція медіаторів запалення та, як наслідок, викид імуніцитами агресивних сполук – вільних радикалів, що має наслідком формування виразкових дефектів. Оскільки цинк є мікроелементом, який може запобігати утворенню виразок завдяки своїм антиоксидантним та імуномодуючим властивостям, а також контролювати регенераторні процеси, дослідження його вмісту під час утворення та загоєння стрес-індукованих уражень слизової оболонки метою представленої роботи.

Об'єкт та методи досліджень. Досліди були проведені на нелінійних білих щурах-самцях масою 200 г. Холодовий стрес у піддослідних тварин викликали згідно методу [6]. Омепразол (відомий противиразковий препарат, інгібітор протонної помпи) вводили щурам внутрішньочеревно у дозі 0,8 мг/кг один раз на добу протягом 0–5 доби після виразкоутворення, оскільки на п'яту добу вже практично не було видимих уражень слизової оболонки шлунка. Тварин декапітували через 40 хв (середній період напіввиведення омепразолу). Вміст цинку визначали за методом атомно-адсорбційної спектроскопометрії на приладі С115-М1 (полум'я ацетилен-повітря), виражаючи у мкг/мг білку [2].

Результати та їх обговорення. Важлива біологічна роль цинку зумовлена складними молекулярними механізмами його регуляторної дії. Приблизно 1% генів ссавців кодують "цинкові пальці". Входячи до складу цих структур у білках, пов'язаних з процесами реплікації, транскрипції та трансляції (РНК-полімеразах, зворотній

трансферазі, транскрипційному факторі III та ін.), цей мікроелемент регулює процеси клітинного росту та поділу. Низький вміст цинку призводить до зростання односторонніх розривів у ДНК. Концентрація цинку дуже велика у кістках, оскільки він посилює ефект вітаміну Д через стимуляцію синтезу ДНК у остеобластах та прискорює синтез лужної фосфатази, яка посилює депонування кальцію у кісткових діафізах. Цинк також взаємодіє з гормонами, які залучені у кістковий ріст, такими як соматомедин, остеокальцин, тиреоїдні гормони, тестостерон та інсулін. Нестача мікроелементу пов'язана з порушеннями метаболізму тиреоїдних гормонів, андрогенів, та понад усе, гормонів росту. Цинк також впливає на гормональну регуляцію клітинного поділу. Він є необхідним для реалізації ефекту інсуліноподібного фактору росту на ланці післярецепторного зв'язування, адекватного проведення сигналу та вивільнення внутрішньоклі-

тинних месенджерів, які координують клітинну проліферацію. Цинк має важливу роль для нормального функціонування імунної системи, формування клітинного імунітету, дозрівання та функціонування Т клітин як кофактор для гормону тимуліну. Фізіологічний рівень цинку для клітин імунної системи складає 12–16 мкМ [7].

Таким чином, цей мікроелемент має потенціальну властивість контролювати як процеси формування стрес-індукованих виразкових дефектів, так і прискорювати реепітелізацію клітин слизової оболонки ШКТ. Нами було досліджено вміст цинку у клітинах слизової оболонки шлунка щурів за умов формування та загоєння виразкових дефектів, зумовлених дією холодового стресу. Достовірне зниження вмісту цинку у клітинах слизової оболонки шлунка спостерігалось відразу після холодового стресу та на п'яту добу після цього (у 2,3 та 2,1 рази відповідно) (табл.).

Таблиця. Вміст цинку, мкг/мг білку в клітинах слизової оболонки шлунка щурів за умов холодового стресу, n=6

Експериментальний стан тварин		Доба після виразкоутворення					
		0	1	2	3	4	5
контроль	0,64±0,06						
виразка шлунка		0,28±0,03*	0,78±0,09	0,69±0,10	0,58±0,05	0,62±0,07	0,31±0,04*
виразка шлунка+омепразол		0,39±0,04*	0,67±0,08	0,40±0,03*	0,35±0,05*	0,48±0,09	0,54±0,05
омепразол ¹		0,49±0,03*	0,48±0,02*	0,34±0,05*	0,35±0,05*	0,27±0,04*	0,53±0,02*

*- $p \leq 0,05$ порівняно з контролем;

¹ - група тварин, яким вводили препарат омепразолу за відсутності дії стресового фактору.

Такі дані співпадають з даними літератури про зниження вмісту мікроелементу за умов патологій ШКТ [3]. При цьому цікавим є встановлене двохфазне зниження показника. Такі результати можуть бути пояснені з огляду на первинну реакцію, зумовлену, ймовірно, за все, гормональним впливом після холодового стресу, та використанням антиоксидантних властивостей системи цинку, у наслідок чого відбулося вичерпання ресурсів мікроелементу. Відновлення вмісту цинку протягом 1–4 діб після холодового стресу може відбуватися завдяки надходженню його з інших тканин. Вторинне зниження вмісту мікроелементу на п'яту добу (за умов відсутності макроскопічних ознак ураження слизової) може бути зумовлене вичерпанням депо цинку у організмі та ознакою хронізації процесу.

Кислотність в тубулоезикулах та люмені шлункової залози регулюється вмістом дивалентних катіонів, таких як $Zn(2+)$ [8]. Одними з найбільш відомих необоротних селективних інгібіторів протонної помпи, що також сприяють підвищенню кислотності шлункового вмісту, є омепразол та його похідні. Ефект цих противиразкових препаратів на функціонування клітин ШКТ перебуває у сфері інтенсивних наукових досліджень. Так, введення омепразолу у дозах, що не знижували секреторну активність шлунка, значно зменшувало ефективність виразкоутворення за умов холодового стресу [6]. Дослідження механізмів такого ефекту показали, що омепразол демонструє антиоксидантні властивості, зменшуючи кількість продуктів ПОЛ, ушкодження ДНК, частоту апоптозу. При введенні тваринам езомепразолу (похідного омепразолу) протягом 10 діб спостерігалось дозозалежне підвищення антиоксидантної здатності та зниження пероксидації ліпідів у клітинах слизової оболонки шлунка [12]. При цьому спостерігалось зростання активності Cu/Zn -залежної супероксиддисмутази. Таким чином, антиоксидантний ефект езомепразолу у вищих відділах ШКТ є комплексним і залучає як ензиматичні, так і не-ензиматичні компоненти [12].

Нами було досліджено ефект введення омепразолу тваринам після холодового стресу на рівень цинку у клі-

тинах слизової оболонки шлунка. Показано, що у щурів, яким вводили омепразол, також спостерігалось зниження вмісту цинку у 1,6 разів відразу після впливу стресового фактору та на другу та третю добу після цього (у 1,6 та 1,8 разів) (табл.). Таким чином, не дивлячись на цитопротекторні та антиоксидантні властивості омепразолу, нами не було встановлено нормалізуючого впливу введення цього препарату на досліджуваний показник.

З літературних даних відомо, що введення препаратів, спрямованих на корекцію метаболічних порушень, не здатне нормалізувати вміст цинку [4]. Крім того, у щурів з цекоколонектомією введення омепразолу призводило до зниження вмісту цинку у сироватці крові [11].

Таким чином, дані літературних джерел та наших власних досліджень дещо суперечливі, що може пояснюватися, по-перше, відмінностями у хімічній структурі езомепразолу та омепразолу. Езомепразол – це модифіковане похідне омепразолу, завдяки чому ця сполука може мати різні константи дисоціації з катіоном цинку, що впливає на розщеплення цинкових металотіонінів, а також на інтенсивність виснаження депо цинку у тканинах після стресового впливу. Омепразол, у свою чергу, може мати можливість напряду взаємодіти з білками гомеостазу цинку у клітині та регулювати надходження вільного катіону у цитозоль.

Для перевірки цього припущення нами було проведено дослідження вмісту цинку в клітинах слизової оболонки шлунка щурів, які не підлягали холодовому стресу за умов введення препарату. Було встановлено, що введення омепразолу призводило до стійкого зниження показника. При цьому найбільш суттєве зниження спостерігалось на 2-гу, 3-тю та 4-ту добу після початку введення (у 1,9, 1,8 та 2,4 рази відповідно) (табл.).

Оскільки відомо, що цинк здатний до комплексоутворення з омепразолом у співвідношенні 1:2 [10], можливо, введення омепразолу призводить до вивільнення цинку із металотіоніну та виведення цинку з організму разом з препаратом. Цим можна пояснити зниження вмісту мікроелементу у таких тварин.

Слід відмітити, що у групі тварин, яким вводили препарат після впливу стресового фактору, також спостерігалось зниження вмісту цинку, проте не дивлячись на це, вміст мікроелементу у клітинах слизової оболонки шлунка нормалізувався у пізні строки дослідження. Ймовірно, така нормалізація є наслідком активації ядерного апарату клітин омепразолом за умов реепітелізації.

Висновок. Розвиток стрес-індукованих уражень слизової оболонки шлунка супроводжувався зниженням вмісту цинку у клітинах слизової оболонки шлунка. Встановлені порушення можуть зумовлювати тривале, навіть несприятливе протікання хронічної гастродуоденопатії і бути причиною частого рецидивування. Отримані нами результати узгоджуються з наданими іншими вченими даними про згубну дію дефіциту цинку, прискорене одужання пацієнтів з виразкою шлунка за умов введення препаратів цинку, та захисний ефект цих препаратів при різних моделях виразкових уражень з різними патофізіологічними механізмами [5].

1. Авцын А.П. Микроэлементы человека этиология, классификация, органопатология. — М., 1991. — 497 с. 2. Ермаченко Л.А., Ермаченко В.М. Атомно-адсорбционный анализ в санитарно-гигиенических исследованиях. — М.: "Чувашия", 1997 — С. 48–84. 3. Протасова Н.А. Микроэлементы: биологическая роль, распределение в почвах, влияние на распространение заболеваний человека и животных // СОЖ. — 1998. — № 12. — С. 32–37. 4. Фаёзулина Р.А. Влияние микроэлементных нарушений на состояние перекисного окисления липидов при хроническом гастродуодените у детей // Педиатрия. — 2002. — № 3. — С. 44–48. 5. Barbarino F., Toganel E., Brilinschi C. et al Effects of zinc-aspartate and zinc-glycinate in healthy rats and on reserpine-induced gastric lesions // Biol. Trace Elem. Res. — 1988. — № 3. — P. 253–267. 6. Biswas K., Bandyopadhyay U., Chattopadhyay I., et al. A Novel Antioxidant and Antiapoptotic Role of Omeprazole to Block Gastric Ulcer through Scavenging of Hydroxyl Radical // J. Biol. Chem. — 2003. — 278. — № 13. — P. 10993–11001. 7. Dardenne M. Zinc and immune function // Eur. J. Clin. Nutr. — 2002. — Vol. 56. — № 3. — P. S20–S23. 8. Gerbino A., Hofer A.M., McKay B., et al Divalent cations regulate acidity within the lumen and tubulovesicle compartment of gastric parietal cells // Gastroenterology. — 2004. — Vol. 126. — № 1. — P. 182–195. 9. Frassinetti S., Bronzetti G., Caltavuturo L. et al. The role of zinc in life: a review // J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. — 2006. — Vol. 25. — № 3. — P. 597–610. 10. Hamdan I.I. In vitro study of the interaction between omeprazole and the metal ions Zn(II), Cu(II), and Co(II) // Pharmazie. — 2001. — Vol. 56. — № 11. — P. 877–881. 11. Hara H., Konishi A., Kasai T. Contribution of the cecum and colon to zinc absorption in rats // J. Nutr. — 2000. — Vol. 130. — № 1. — P. 83–89. 12. Koch T.R., Petro A., Darrabie M., Opara E.C. Effect of the H, K-ATPase inhibitor, esomeprazole magnesium, on gut total antioxidant capacity in mice // J. Nutr. Biochem. — 2004. — Vol. 15. — № 9. — P. 522–526.

Надійшла до редколегії 26.04.07

УДК 577.44

Н. Нурищенко, д-р біол. наук, П. Чорноморець, асп.,
Л. Пелюх, пров. інж., М. Мірошніченко, д-р біол. наук

БІОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПЕВТИЧНОГО УЛЬТРАЗВУКУ РІЗНИХ ІНТЕНСИВНОСТЕЙ

Досліджено вплив ультразвуку з інтенсивностями 0,1 Вт/см² – 1,0 Вт/см² на стійкість мембран еритроцитів до гемолізу, активність мембранних АТФ-аз, а також на стан перекисного окиснення ліпідів та активність ендогенних антиоксидантних ферментів.

The effect of ultrasound with intensity 0,1 W/cm² – 1,0 W/cm² on the stability of erythrocyte membrane, activity of membrane ATP-ases, lipid peroxidation and antioxidant enzymes was studied.

Вступ. Одним з визначальних механізмів дії ультразвуку (УЗ) є зміна мікрооточення клітини та порушення проникності клітинних мембран [1]. Серед ефектів, пов'язаних з дією УЗ середніх та високих інтенсивностей на живий організм, можна також виділити генерацію вільних радикалів [2], певна кількість яких завжди існує і необхідна для нормального перебігу метаболічних процесів, а підвищення їх рівня вище фізіологічної межі призводить до деструктивних змін. Загальноприйняте, що механізм дії УЗ високих інтенсивностей включає кавітацію і зв'язане з нею утворення вільних радикалів [3]. Вплив УЗ малих і середніх інтенсивностей, що використовуються з лікувальними цілями, на процеси генерації і нейтралізації вільних радикалів і оксидантів не вивчений. Стимулюючий вплив УЗ на гліколіз, систему аденолових нуклеотидів і ряд інших метаболічних реакцій дозволяє припустити позитивну дію УЗ на ці процеси.

Дія УЗ на біологічний об'єкт, як відомо, визначається як властивостями самого об'єкту, так і параметрами фізичного фактору. Однією з важливих характеристик дії УЗ є інтенсивність. Підбір інтенсивності, при якій низька деструктивна дія сполучається з високою фізико-хімічною і біологічною активністю, є, безумовно, актуальним.

Враховуючи вищевикладене, метою роботи було вивчення впливу різних інтенсивностей ультразвуку на стійкість мембран еритроцитів до гемолізу, активність мембранних АТФ-аз, а також на стан перекисного окиснення ліпідів та активність ендогенних антиоксидантних ферментів.

Матеріали і методи. Дослідження реакцій клітин і тканин на дію УЗ різних інтенсивностей були проведені на 200 білих безпородних статевозрілих щурах вагою 180–200 г.

Тварин дослідних груп (n=6-10) озвучували в області піднебінних дужок. Перед процедурою волоссяний покрив на місці дотику аплікатора видаляли безпечною бритвою. Як джерело УЗ використовували прилад УЗТ-3.04ІЗ. Частота ультразвуку становила 0,88 МГц. При вивченні впливу УЗ на перекисне окиснення ліпідів та активність ендогенних антиоксидантів тварин піддавали 10-хвилинному озвученню. Інтенсивність становила 0,2 Вт/см², 0,3 Вт/см², 0,5 Вт/см² та 1,0 Вт/см². Дослідження проводили через 3 год, 24 год та 48 год після дії ультразвуку.

При дослідженні впливу УЗ на проникність мембран еритроцитів та активність АТФ-аз застосовували УЗ з інтенсивностями 0,1 Вт/см², 0,3 Вт/см², 0,5 Вт/см². Проводили курсове п'ятиразове озвучення (по 10 хвилин через добу протягом десяти діб). Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 3 години після останнього сеансу. В усіх серіях дослідів в якості контрольної використовували групу тварин, яким проводили так зване "вдаване озвучення", що являло собою імітацію процедури озвучення, але при відключеному генераторі ультразвукового сигналу.

Проникність мембран еритроцитів крові визначали за осмотичною резистентністю до розчинів сечовини різної концентрації [4]. Визначення активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази мембран еритроцитів крові проводили за методом [5]. Перекисне окиснення ліпідів оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [6]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом [7], а каталази – за методом [8]. Білок визначали за Lowry [9]. Вимірювання проводили на спектрофотометрі СФ-46 (ЛОМО, Росія).

Результати та обговорення. Встановлено, що застосування УЗ з інтенсивністю 0,2 Вт/см² викликало зни-

ження вмісту МДА в крові дослідних тварин на 32,1% ($p < 0,05$) через 3 год після озвучення (табл. 1). Виявлені зміни можна пояснити активацією ферментативних процесів утилізації кисню таких, як тканинне дихання, окиснювальне фосфорилування. На користь цього також свідчить той факт, що УЗ вищезгаданих інтенсивностей не впливав на активність ферментів антиоксидантного захисту (див. табл. 1). Під впливом УЗ з інтенсивністю 0,3 Вт/см² та 0,5 Вт/см² не спостерігалось достовірних змін досліджених показників. При застосуванні УЗ з інтенсивністю 1,0 Вт/см² через 3 год після озвучення рівень МДА збільшився на 34,9% ($p < 0,05$) порівняно з контролем, але вже через 24 год нормалізувався. При дії УЗ цієї інтенсивності через 3 год спостеріга-

лось підвищення активності СОД на 72,5% ($p < 0,05$) порівняно з контролем, тоді як активність каталази не змінювалась. Через 24 год активність СОД нормалізувалась, а активність каталази підвищувалась на 30,6% ($p < 0,05$). Через 48 год показники активності цих ферментів не відрізнялись від контролю. Встановлене співвідношення активності антиоксидантних ферментів представляється цілком закономірним, оскільки відомо, що при збільшенні концентрації специфічного субстрату активність ферменту спочатку підвищується, а потім, коли запаси субстрату виснажуються, знижується. Враховуючи те, що СОД є першим ферментом в системі антиокиснювального захисту, зміни її активності відбуваються раніше і більш виражені.

Таблиця 1. Вміст малонового діальдегіду, активність супероксиддисмутази та каталази в крові щурів під впливом ультразвуку різних інтенсивностей

Строк спостереження	Показник			
	Вміст МДА, нмоль/л ($M \pm m$)			
Контроль	145,2 $\pm$ 5,4; n=10			
	Інтенсивність УЗ, Вт/см ²			
	0,2	0,3	0,5	1,0
3 год	98,6 $\pm$ 3,4* n=9	134,5 $\pm$ 8,3 n=8	163,4 $\pm$ 16,1 n=8	195,8 $\pm$ 10,5* n=7
24 год	126,4 $\pm$ 9,5 n=10	137,6 $\pm$ 9,3 n=9	155,8 $\pm$ 8,9 n=10	181,0 $\pm$ 15,6 n=9

Продовження табл. 1

48 год	138,0 $\pm$ 4,9 n=8	150,0 $\pm$ 9,1 n=10	154,0 $\pm$ 10,5 n=9	165,4 $\pm$ 9,1 n=8
	Активність СОД, од/хв на 1 мг білка ($M \pm m$)			
Контроль	10,52 $\pm$ 1,12; n=10			
	Інтенсивність УЗ			
	0,2 Вт/см ²	0,3 Вт/см ²	0,5 Вт/см ²	1,0 Вт/см ²
3 год	10,15 $\pm$ 0,85 n=9	11,94 $\pm$ 1,95 n=8	9,46 $\pm$ 0,50 n=8	18,15 $\pm$ 0,91* n=7
24 год	10,16 $\pm$ 0,50 n=10	9,35 $\pm$ 0,90 n=9	9,67 $\pm$ 0,43 n=10	11,16 $\pm$ 1,02 n=9
48 год	10,84 $\pm$ 0,48 n=8	9,11 $\pm$ 0,61 n=10	8,17 $\pm$ 0,91 n=9	9,18 $\pm$ 0,57 n=8
	Активність каталази, од/хв на 1 мг білка ($M \pm m$)			
Контроль	39,35 $\pm$ 2,15; n=10			
	Інтенсивність УЗ			
	0,2 Вт/см ²	0,3 Вт/см ²	0,5 Вт/см ²	1,0 Вт/см ²
3 год	36,15 $\pm$ 3,42 n=9	38,80 $\pm$ 3,26 n=8	39,14 $\pm$ 4,86 n=8	41,40 $\pm$ 4,86 n=7
24 год	36,77 $\pm$ 1,45 n=10	39,39 $\pm$ 2,05 n=9	31,96 $\pm$ 4,41 n=10	51,40 $\pm$ 2,10* n=9
48 год	38,95 $\pm$ 5,82 n=8	37,17 $\pm$ 4,13 n=10	35,16 $\pm$ 2,85 n=9	37,50 $\pm$ 4,10 n=8

* – достовірна різниця досліджуваних величин відносно групи тварин з вдаванням озвучуванням при $p > 0,95$

З метою визначення мембранних механізмів дії було проведено дослідження впливу різних інтенсивностей ультразвуку на проникність еритроцитарних мембран та активність внутрішньомембранного ферменту – Na⁺,K⁺-АТФ-ази.

Показано, що дія УЗ з інтенсивностями 0,1 Вт/см² і 0,3 Вт/см² не призводила до значних змін проникності мембран еритроцитів, про що свідчить відсутність помітного зростання виходу гемоглобіну в умовах озвучення. При застосуванні ультразвуку з інтенсивністю 0,5 Вт/см² процент гемолізу еритроцитів підвищувався в 2,2 рази ($p < 0,05$) і становив 32,14 $\pm$ 2,17% порівняно з 14,40 $\pm$ 2,40% в контролі.

Вивчення активності Na⁺,K⁺-АТФ-ази мембран еритроцитів показало (табл. 2), що під впливом УЗ з інтенсивностями 0,1 Вт/см² і 0,3 Вт/см² активність ферменту підвищувалась в 1,5 рази ($p < 0,05$) і в 1,6 рази ($p < 0,05$), відповідно. УЗ з інтенсивністю 0,5 Вт/см² знижував активність Na⁺,K⁺-АТФ-ази в 1,8 рази ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Проведені дослідження показали, що ультразвук з інтенсивностями 0,1 Вт/см² і 0,3 Вт/см² не впливає значним чином на стійкість еритроцитарних мембран до ге-

молізу. Підвищення активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази, що спостерігалось при використанні зазначених інтенсивностей ультразвуку, очевидно, здатне компенсувати перерозподіл іонів, що виникає під впливом ультразвуку. Завдяки цьому порушення мембран не розвиваються і не спричиняють значних змін внутріклітинного метаболізму.

Ультразвук з інтенсивністю 0,5 Вт/см² підвищує проникність мембран еритроцитів і, як наслідок, зростання виходу гемоглобіну. При дії ультразвуку з інтенсивністю 0,5 Вт/см² відбувалось, на наш погляд, порушення стеричної взаємодії Na⁺, K⁺-АТФ-ази з мембранними фосфоліпідами, що супроводжувалось зниженням ферментативної активності.

Висновки. 1. Ультразвук з інтенсивностями 0,1 Вт/см² і 0,3 Вт/см² не впливає на стійкість еритроцитарних мембран до гемолізу. Це може бути пов'язане з підвищенням АТФ-азної активності під впливом зазначених інтенсивностей ультразвуку, що очевидно, здатне компенсувати перерозподіл іонів зашкоджуючи порушенню мембран. При дії ультразвуку з інтенсивністю 0,5 Вт/см² відбувається значне зниження стійкості мембран до гемолізу, що супроводжується зниженням АТФ-азної активності.

Таблиця 2. АТФ-азна активність мембран еритроцитів щурів при впливі ультразвуку різних інтенсивностей

Показник	Активність АТФ-ази, нмоль Р _i /хв на 1 мг білка (M±m)		
	Контроль; n=10		
Загальна АТФ-аза	49,8±0,7		
Mg ²⁺ -АТФ-аза	37,4±0,5		
Na ⁺ ,K ⁺ -АТФ-аза	12,4±0,3		
	ультразвук, інтенсивність		
	0,1 Вт/см ² ; n=10	0,3 Вт/см ² ; n=9	0,5 Вт/см ² ; n=10
Загальна АТФ-аза	70,4±0,8*	86,5±0,8*	30,8±0,7*
Mg ²⁺ -АТФ-аза	52,6±0,4*	65,6±0,7*	23,6±0,3*
Na ⁺ ,K ⁺ -АТФ-аза	18,2±0,2*	20,1±0,3*	6,9±0,1*

* – достовірна різниця досліджуваних величин відносно групи тварин з вдаванням озвучуванням при p>0,95.

2. Ультразвук впливає на процеси перекисного окиснення ліпідів, а також активність основних антиоксидантних ферментів в залежності від інтенсивності. Застосування ультразвуку з інтенсивністю 0,2 Вт/см² призводить до зниження вмісту МДА в крові дослідних тварин. Активність СОД та каталази при такому впливі не змінюється. Під впливом ультразвуку з інтенсивністю 0,3 Вт/см² та 0,5 Вт/см² не спостерігається достовірних змін досліджених показників. При застосуванні УЗ з інтенсивністю 1,0 Вт/см² відмічається посилення перекисного окиснення ліпідів, що проявляється в підвищенні вмісту МДА та змінах активності СОД і каталази.

3. Ультразвук з інтенсивностями 0,1–0,3 Вт/см² прояв-

ляє біологічну ефективність при відсутності негативних деструктивних змін.

1. Nyborg W.L. // Ultrasound in Med. Biol. – 2001. – Vol. 27. – N 3. – P. 301–333. 2. Misik V., Riesz P. // Ann. NY Acad. Sci. – 2000. – Vol. 899. – P. 335–348. 3. Kondo T., Kodaira T., Kano E. // Free Radical Res. Commun. – 1993. – Vol. 19. – S. 193–200. 4. Казеннов А.М., Маслова М.Н., Шалабодов А.Д. // Биохимия. – 1984. – Т. 49. – N. 7. – С. 1089–1094. 5. Болдырев А.А. Введение в биомембранологию. Современные методы исследования. – М.: Наука, 1977. – С. 179–180. 6. Porter N.A., Nixon L. // Biochem. Biophys. Acta – 1976. – Vol. 441. – P. 506–512. 7. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. // Лабораторное дело. – 1983. – N. 10. – С. 30–33. 8. Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Т. // Лабораторное дело. – 1988. – N. 1. – С. 16–18. 9. Lowry Q.H., Rosebrough N.I., Farr A.L., Randall R.I. // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.

Надійшла до редколегії 26.03.07

УДК: 591.463.1+612.616.2:612.014.48

Д. Ватліцов, асп., А. Клепко, канд. біол. наук,
К. Андрейченко, студ., С. Андрейченко, д-р біол. наук

КІЛЬКІСНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ РОЗВИТКУ КЛІТИННОЇ ЗАГИБЕЛІ В ГАММА-ОПРОМІНЕНИХ СПЕРМАТОЗОЇДАХ ЩУРІВ

Вивчали вплив іонізуючої радіації на рухливість сперматозоїдів, розвиток в них апоптозу та некрозу. Встановлено кількісні закономірності апоптичної та некротичної морталізації сперматозоїдів після опромінення в діапазоні доз 1–100 Гр, а також дозові залежності, що характеризують кількісні зміни в субпопуляціях сперматозоїдів на різних стадіях апоптозу.

The impact of ionizing irradiation on spermatozoa motility as well as apoptosis and necrosis development in male gametes have been studied. The quantitative regulations of apoptic and necrotic mortalization of spermatozoa in the dose range 1–100 Gy were elucidated. Apart from this, dose dependences of quantitative changes in subpopulation of spermatozoa on different stages of apoptosis were found out.

Швидкий розвиток атомної енергетики, безумовно, несе в собі небезпеку непередбаченого опромінення персоналу атомних об'єктів та населення близьких територій іонізуючою радіацією, яскравим прикладом чого є аварія на ЧАЕС. При радіаційному впливі на живий організм репродуктивна система може зазнавати відчутних змін. В цьому зв'язку особливий інтерес викликає вивчення різних етапів розвитку радіаційного синдрому в сперматозоїдах, які відіграють роль клітин, що зберігають та переносять генетичну інформацію при відтворенні потомства [1, 2]. Показано, що іонізуюча радіація викликає пошкодження тканин і, в той же час, сприяє індукції програмованої клітинної загибелі – апоптозу, котрий, відповідно до сучасних уявлень, є основним механізмом, що регулює природне відмирання клітин в тканинах живого організму. Тому будь-яка стимуляція апоптозу обов'язково буде сполучена зі суттєвим зменшенням початкового пулу нормально функціонуючих клітин в загальній популяції [3–5].

Основною метою досліджень було вивчення загальних тенденцій імобілізації та морталізації сперматозоїдів при дії різних доз іонізуючої радіації, а також визначення кількісних аспектів пострадіаційного перерозподілу сперматозоїдів по різних стадіях програмованої клітинної загибелі.

Матеріали та методи. Дослідження проводились на білих безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 250–300 г розведення місцевого віварію. Після декапітації тва-

рин під слабким ефірним наркозом видаляли сім'яні придатки (епідідіміси) та поміщали їх в ізотонічний розчин хлориду натрію. Згодом епідідіміси опромінювали γ-променями ⁶⁰Co на установці "Дослідник" з потужністю дози 1,9 сГр/с в діапазоні доз 1–100 Гр. Залишки тканин епідідімісів відокремлювали шляхом фільтрування за допомогою нейлонового фільтру з діаметром пор 100 мкм.

З метою тестування рухливості сперматозоїдів краплю приготовленої суспензії переносили на предметне скельце термостатованого столика з температурою 37 °C і спостерігали під мікроскопом МБІ-15 на збільшенні х 600.

Кількісне вивчення різних стадій клітинної загибелі в популяції сперматозоїдів проводили на лазерному проточному цитометрі PAS фірми Partec (Германія) при вхідній напрузі лазера 200 мВ та довжині хвилі 488 нм. Для роботи на проточному цитометрі використовували набір "Annexine V apoptosis detection kit I" фірми BD Bioscience (США). Ідентифікацію мічених анексіном V-ФІТЦ (флуоросцеїн ізотіоніонат) та пропідія йодідом (ПІ) сперматозоїдів проводили за допомогою зеленого та червоного світлодетекторів, відповідно [6, 7]. Експериментальні дані обробляли за допомогою програми FlowMax (Partec, Германія).

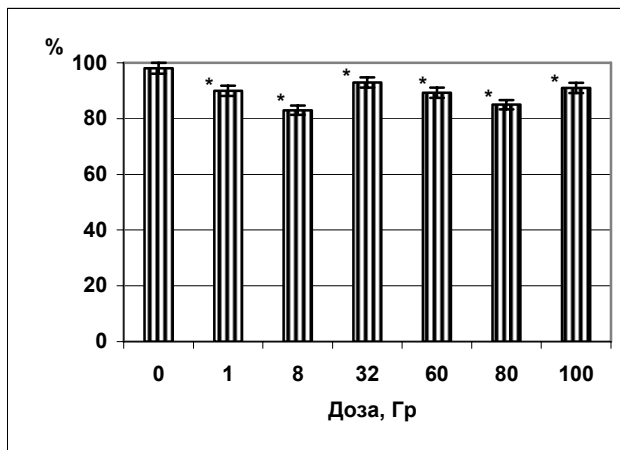
Нормально функціонуючі клітини ідентифікували як анексіні V-ФІТЦ(-)/ПІ(-). Клітини, що знаходилися на ранній стадії апоптозу, визначали як анексіні V-ФІТЦ(+)/ПІ(-), а клітини на пізній стадії апоптозу чи ті, що загинули в результаті апоптозу визначали як ане-

ксін V-ФІТЦ(+)/ПІЙ(+). Анексін V-ФІТЦ(-)/ПІЙ(+) вважали мертвими клітинами, що загинули в результаті некрозу.

Кількість сперматозоїдів, що загинули в результаті апоптозу, визначали шляхом обчислення різниці між загальним числом нерухомих сперматозоїдів та тих, що загинули в результаті некрозу. Статистичну обробку

експериментальних даних проводили за загальновідомою методикою [8].

Результати досліджень та їх обговорення. При дослідженні іммобілізації сперматозоїдів було встановлено, що в діапазоні доз гамма-опромінення 1-100 Гр рухливість гамет змінювалась хвилюподібно, утворюючи чіткий мінімум при 8 Гр та максимуми при 32 і 100 Гр (рис.).



* – достовірні зміни відносно контролю при $p \leq 0,05$

Рис. Кількісна оцінка рухливості сперматозоїдів після опромінення гамма-радіацією в діапазоні 1–100 Гр

Значна втрата рухливості при дозі 8 Гр поєднувалась з появою мертвих сперматозоїдів, що загинули в результаті розвитку в них як апоптозу, так і некрозу, хоча внесок апоптозу в загибель сперматозоїдів був майже в 2 рази більший, ніж некрозу (табл.).

Зі зростанням дози опромінення спостерігалось поступове вирівнювання вказаної диспропорції, причому при дозі 80 Гр внесок обох компонентів в реалізацію

вказаного феномену стає майже рівним. Однак, вже при дозі 100 Гр знову виявлено відновлення диспропорції. При цьому необхідно звернути увагу, що у вивченому діапазоні доз мертвих сперматозоїдів було виявлено не більше 20% від всієї популяції клітин. Крім мертвих сперматозоїдів були також виявлені клітини на пізній та ранній стадіях апоптозу.

Таблиця. Кількісні характеристики різних субпопуляцій сперматозоїдів в загальній популяції чоловічих гамет в залежності від дози γ -радіації

Доза, Гр	нормально функціонуючі клітини, %	клітини на ранній стадії апоптозу, %	клітини на пізній стадії апоптозу, %	мертві клітини (апоптоз), %	мертві клітини (некроз), %
0	94,16	2,73	1,11	1,21	0,79
1	75,69	10,03	6,55	4,28	3,45
8	69,89	9,66	0,55	13,55	6,35
32	78,62	13,92	5,19	0,65	1,62
60	76,55	7,14	0,98	9,78	5,55
80	76,54	6,01	1,94	9,45	6,06
100	77,91	9,66	6,1	2,94	3,39

Як з'ясувалось, найбільшу кількість сперматозоїдів на пізній стадії апоптозу було виявлено при опроміненні в дозі 8 Гр. В той же час, різке зростання кількості чоловічих гамет на ранній стадії апоптозу мало місце лише при дозі 32 Гр і дорівнювало 13%. При порівнянні з контролем це число зросло майже в 6,5 рази.

Нашими дослідженнями вдалося також показати, що після опромінення епідідімісів іонізуючою радіацією в діапазоні доз 1–100 Гр обов'язково залишається не менше 60% клітин, котрі повністю зберігають свою рухливість та притаманні їм життєві функції.

Висновки. Отримані дані сприяють отриманню об'єктивної інформації про дозові закономірності розвитку апоптозу та некрозу в чоловічих гаметах при дії γ -радіації шляхом моделювання процесів радіаційного ураження на сперматозоїдах лабораторних тварин.

1. Pandey K.K., Patchell M.R. Genetic transformation in chicken by the use of irradiated male gametes // Mol. Gen. Genet. – 1982. – N. 3. – P. 295–300.
2. Braham C.F. The production of parthenogenetic mammalian embryos and their use in biological research // Biol. Rev. – 1974. – N 4. – P. 399–422.
3. Ricci G., Perticarari S., Fragonas E. et. al Apoptosis in human sperm: its correlation with semen quality and the presence of leukocytes // Human Reproduction. – 2002. – P. 2665–2672.
4. Barroso G., Taylor S., Morshedi M. et. al Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylserine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm subpopulations // Fertility and Sterility. – 2006. – N 1. – P. 149–154.
5. Martin G., Sabido O., Durand Ph., Levy R. Phosphatidylserine externalization in human sperm induced by calcium ionophore A23187: relationship with apoptosis, membrane scrambling and the acrosome reaction // Human Reproduction. – 2005. – N 12. – P. 3459–3468.
6. Annexin V-FITC apoptosis detection kit I // Technical data sheet. – BD Bioscience. – 2002. – 3 p.
7. Apoptosis: Applied Reagents and Technologies // Instruction Manual. – BD Bioscience. – 1998. – 2nd ed. – 99 p.
8. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Вища школа. – 1973. – 320 с.

Надійшла до редколегії 26.03.07

УДК 578.85/86

О. Камзел, магістр 2-го року, С. Петренко, пров. інж.,
І. Будзанівська, канд. біол. наук, О. Шевченко, канд. біол. наук

КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ ВМІСТОМ ЦИНКА ТА ЕФЕКТИВНІСТЮ РЕПЛІКАЦІЇ ВІРУСА ТЮТЮНОВОЇ МОЗАЇКИ У РОСЛИНАХ ТЮТЮНУ

Проаналізовано взаємозв'язок між накопиченням рослинами тютюну важкого металу цинка та ефективністю репродукції вірусу тютюнової мозаїки. Продемонстровано, що підвищення концентрації вірусу у тканинах інфікованих рослин, вирощених у штучно контамінованому цинком ґрунті, є прямим наслідком накопичення цинка у надземній частині дослідних рослин.

Relationships between zinc accumulation in tobaccos and efficiency of Tobacco mosaic virus replication were analyzed. It was established that increase of virus concentration in tissues of infected plants grown in artificially Zn-contaminated soil is a direct consequence of zinc content elevation in above-ground part of experimental plants.

Вступ. Більшість сільськогосподарських земельних угідь значно забруднені хімічними сполуками. Особливе місце серед контамінантів посідають важкі метали, які мають тенденцію до поступового накопичення у ґрунтах внаслідок промислової, транспортної активності та агро меліоративних заходів [7], і чинять негативний фізіологічний вплив на ріст та розвиток рослин [3].

Окрім того, нагальною проблемою сучасного сільськогосподарства є значні втрати врожаю внаслідок поширення фітовірусних інфекцій та відсутності засобів їх контролю. Виходячи з вищенаведеного зрозуміло, що в агроценозах України є типовою ситуація, при якій відбувається інфікування вірусом рослини, яка вже зазнає впливу інших стресових чинників, наприклад, важких металів.

Одночасна дія важких металів та вірусної інфекції, як продемонстровано у декількох модельних системах "рослина-вірус-важкий метал", характеризується, скоріше, адитивним типом взаємодії стосовно рослинного організму, тобто викликає більш значні негативні функціональні зміни у порівнянні зі впливом кожного фактору окремо [2]. Окрім того, у рослинах родини *Solanaceae*, які зростають у ґрунті, штучно контамінованому важкими металами, реплікація типових вірусів відбувається більш ефективно (суворіший прояв системних симптомів вірусної інфекції, вищий вміст вірусу у рослині) [11]. Логічним постає питання про потенційну залежність реплікації вірусів від вмісту важких металів у тканинах рослин, що у разі позитивної кореляції свідчитиме про нагальність проблеми вирощування сільськогосподарських рослин на контамінованих важкими металами територіях.

Дана робота присвячена дослідженню реплікації вірусу тютюнової мозаїки (BTM) в рослинах тютюну та накопичення ними важкого металу цинка.

Об'єкти та методи досліджень. В експериментах були задіяні вірус тютюнової мозаїки (BTM, типовий штам U1) [ICTV Database, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdb/>] та рослини тютюну *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, які системно реагують на інюкуляцію даним штамом BTM із розвитком яскравих симптомів мозаїки та подальшої деформації листків [VIDE Database, <http://image.fs.uidaho.edu/vide/refs.htm>].

Проростки рослин вирощувалися у теплицях у стерильному ґрунті за стандартних умов освітлення, вологості та температури.

Важкий метал цинк вносився у ґрунт прикоренево (проростки на стадії 3 справжніх листків) у формі водорозчинної солі ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) у концентрації, що відповідала 5 гранично допустимим концентраціям (ГДК) з розрахунку на масу ґрунту [4].

Інокуляція дослідних рослин вірусом проводилася механічно втиранням вірусного препарату (концентрація інокуляту становила 100 мкг/мл) за допомогою карборунду та скляної палички на стадії 4 справжніх листків [9].

Дослідження концентрації BTM у рослинах тютюну проводилося методом непрямого імуноферментного

аналізу за стандартною методикою [1] з використанням поліклональної кролячої антисироватки, специфічної до BTM U1 (кафедра вірусології, КНУ ім. Тараса Шевченка), та антивидових козлиних антикролячих антитіл, мічених лужною фосфатазою (Sigma, USA). Реєстрація результатів ІФА проводилася при довжині хвилі 405 нм з використанням ІФА-рідера "Dynatech". Для опосередкованого визначення вмісту BTM у литках тютюну проводилося порівняння оптичної густини відповідних зразків однакової ваги.

Для визначення вмісту цинку у рослинних тканинах застосовувалася атомна адсорбційна спектроскопія (ААС). Методика була складена на основі загальноприйнятих стандартів [5, 6].

Статистична обробка даних проводилася за стандартними процедурами за допомогою програмного пакету MS Excel 2003.

Результати та їх обговорення. Попередні експерименти у модельних системах "*Lycopersicon esculentum* – BTM" та "*Solanum tuberosum* – X-вірус картоплі" показали, що за умов штучного внесення важких металів, і особливо цинку, у ґрунт (концентрації 5-10 ГДК) спостерігається значна інтенсифікація у накопиченні вірусів за результатами ІФА у порівнянні з вірус-інфікованими рослинами, що зростали у стерильному ґрунті. Зокрема, у системі "*Lycopersicon esculentum* – BTM" цинк індуктував збільшення вмісту BTM приблизно у 2,3 рази [10], а концентрації ХВК у рослинах картоплі – у 2,5 рази [11].

Метою даної роботи був порівняльний аналіз накопичення рослинами тютюну антигенів вірусу та іонів цинку. У роботі була використана модельна система із використанням рослин *Nicotiana tabacum* cv. Samsun, які реагують системно на інфекцію BTM. При аналізі розвитку вірусної інфекції на тютюні було виявлено, що у контрольних BTM-інфікованих рослинах симптоми з'явилися на 19 добу після інфікування (дпі). Вірус-індуковані симптоми характеризувалися розвитком типової мозаїки листків з їх наступною деформацією на пізніх стадіях розвитку вірусної інфекції. Розвиток вірус-специфічних симптомів у рослин, які вирощувалися у ґрунті з додаванням цинку, спостерігався лише на 23 добу після інфікування (затримка у 4 доби). Таким чином, внесення у ґрунт цинку у концентрації 5 ГДК призводило до затримки появи візуальних симптомів, індукованих BTM на дослідних рослинах тютюну, що узгоджується з експериментальними даними попередніх досліджень [2, 8, 11].

Вміст антигенів BTM у рослинних тканинах аналізувався методом ІФА. Отримані дані з накопичення рослинами вірусу тютюнової мозаїки на 7 день після інфікування (дпі) продемонстрували підвищення вмісту вірусу в інфікованих рослинах, які вирощувалися при металічному стресі, приблизно у 1,3 разу у порівнянні з BTM-інфікованими контрольними рослинами (рис. 1).

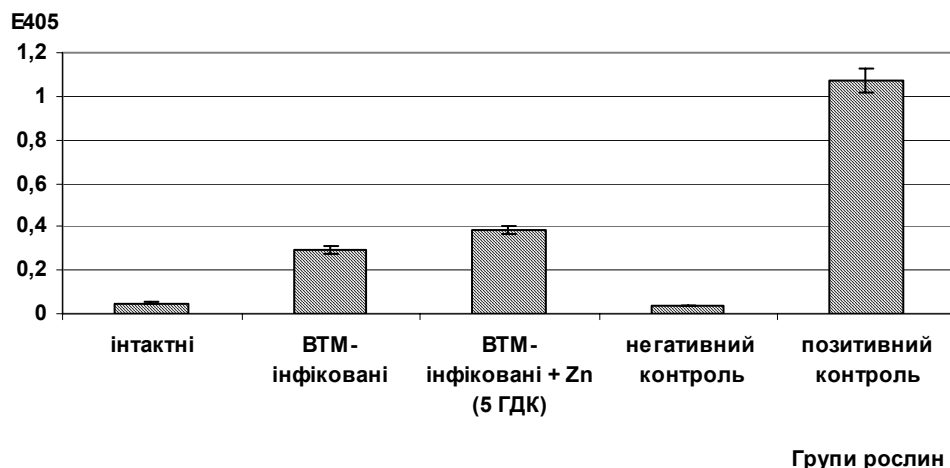


Рис. 1. Вміст BTM у рослинах *Nicotiana tabacum* cv. Samsun (7 дні). Під негативним та позитивним контролем розуміють внутрішні контролю ІФА

Таким чином, наведені результати узгоджуються з нашими попередніми дослідженнями щодо індукуючого впливу важких металів на накопичення вірусних антигенів в інюльованих рослинах [10, 11].

Для вивчення динаміки накопичення важкого металу цинку даними інфікованими рослинами був використаний метод AAC із застосуванням вологої мінералізації рослинного матеріалу. На Рис. 2 представлені результати даного дослідження.

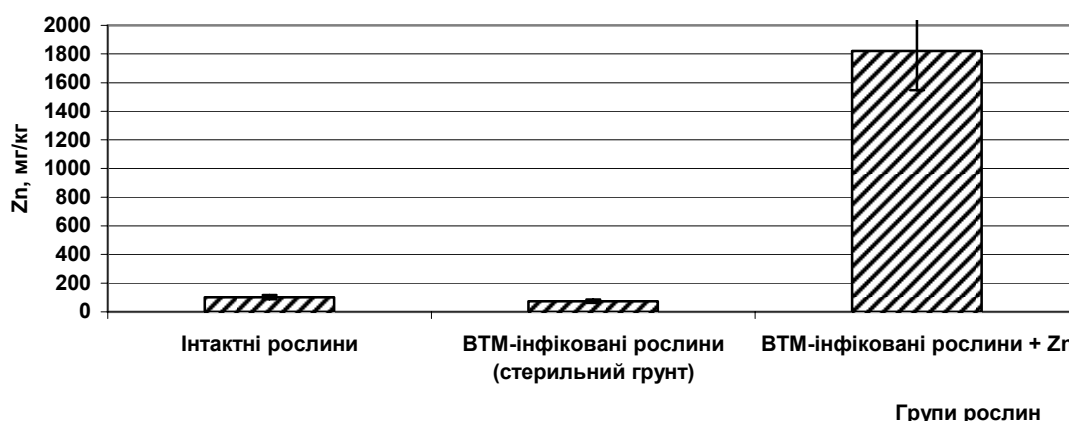


Рис. 2. Вміст цинку у рослинах *Nicotiana tabacum* cv. Samsun (7 дні)

Як видно з діаграми, BTM-інфіковані рослини, що зростали у стерильному ґрунті (без штучного додавання цинку) накопичували цинк статистично однаково з інтактними рослинами. Внесення цинку у ґрунт до кінцевої концентрації 5 ГДК з розрахунку на масу ґрунту індукувало дуже значне підвищення вмісту даного металу у вірус-інфікованих рослинах – у 130–160 разів. Причини такої високої концентрації цинку в оброблених рослинах, ймовірно, пояснюються двома причинами. По-перше, дослід проводився у закритих лабораторних умовах; рослини вирощувалися у посуді без дренажу. Таким чином, на противагу природним умовам, корені рослин перебували у постійному "контакті" з іонами цинку, оскільки останні не мали змоги дифундувати у нижчі шари ґрунту та вимиватися водою при поливі. Крім того, відомо, що рослини у лабораторних умовах є більш сприйнятливими до металевого стресу. По-друге, цинк є високомобільним елементом як у ґрунті, так і в рослині. За літературними даними відомо, що молоді рослини вельми інтенсивно накопичують даний метал надземній частині [4, 7].

Висновки. Виходячи з отриманих результатів, вперше продемонстрована позитивна кореляція між високим вмістом цинку у рослинах тютюну та їх здатністю до більш ефективного накопичення білкових продуктів вірусу тютюнової мозаїки. Невідомо, чи поширюється дана

закономірність на модельні системи із залученням інших вірусів чи рослин-хазяїв, або ж інших важких металів, тому дана тематика потребує подальших досліджень.

1. Антитела 1. Методы / Под ред. Д. Кэйти. – М.: Мир, 1991. – 196 с.
2. Будзанівська І.Г., Поліщук В.П., Бойко А.Л. Вплив підвищених концентрацій важких металів у ґрунті на розвиток вірусної інфекції в агроценозах та лабораторних умовах // Доп. Нац. Акад. Наук України. – 2000. – № 11. – С. 199–203.
3. Гуральчук Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам // Физиология и биохимия культурных растений. – 1994. – Т. 36. – № 2. – С. 107–117.
4. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. – М.: Мир, 1989. – 439 с.
5. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельскохозяйственных и продукции растениеводства. Издательство стандартов. – М., 1992.
6. Сырье и продукты пищевые. Методы определения токсичных элементов. ГОСТ 269(27-35) – 86. Издательство стандартов. – М., 1986.
7. Шевченко О.В., Будзанівська І.Г., Патица В.П., Бойко А.Л., Поліщук В.П. Вплив важких металів на перебіг вірусних інфекцій рослин. – К.: Фітоцентр, 2003. – 224 с.
8. Шевченко О.В., Будзанівська І.Г., Шевченко Т.П., Поліщук В.П. Перебіг вірусної інфекції рослин *Lycopersicon esculentum* при високих концентраціях важких металів // Мікробіологічний журнал. – 2004. – Т. 66. – № 3. – С. 80–88.
9. Hill S.A. Methods in plant virology. – Oxford: Alden Press, 1984. – 167 p.
10. Shevchenko O.V., Budzanivska I.G., Shevchenko T.P., Polischuk V.P., Spaar D. Plant virus infection development as affected by heavy metal stress // Archives of Phytopathology and Plant Protection. – 2004. – Vol. 37. – P. 139–146.
11. Shevchenko O.V., Kamzel O.A., Budzanivska I.G., Shevchenko T.P., Spaar D., Polischuk V.P. Heavy metal soil contamination delays the appearance of virus-induced symptoms on potato but favours virus accumulation // Archives of Phytopathology and Plant Protection (In press).

Надійшла до редколегії 10.03.07

УДК 612.821.1+159.983.2

Д. Горлов, студ., В. Богданов, студ.,
Ю. Горго, д-р біол. наук, проф.

ЗМІНИ ЕЛЕКТРОДЕРМАЛЬНИХ ПОТЕНЦІАЛІВ ЛЮДИНИ ПІД ВПЛИВОМ МЕТЕОФАКТОРІВ

Досліджено розподіл статичних електричних потенціалів біологічно-активних зон обличчя в залежності від умов навколишнього середовища (атмосферний тиск і вологість атмосферного повітря). Визначено, в яких біологічно-активних зонах обличчя статичний електричний потенціал в більшій мірі змінюється в залежності від метеоумов. Запропоновано застосовувати принцип оптимуму для пояснення зв'язку електричних потенціалів шкіри із параметрами умов зовнішнього середовища.

The allocation of static electric potential of face biology-active zones and its dependence of environmental factors (atmospheric pressure, dampness) was investigated. The biology-active zones where the static electric potential changes are more dependent of environmental factors was designated. There was offer to put into practice the rule of optimum to explain the relation of electric potential changes and environmental factors.

Вступ. Електричні характеристики організму широко застосовуються в сучасній науці і медицині, як для проведення досліджень, так і для оцінки стану здоров'я людини. Зокрема статичний електричний потенціал (СТЕП) на сьогодні вважається перспективним параметром, за допомогою якого визначають адаптаційні можливості організму, працездатність, розвиток розладів внутрішніх органів, нервової системи тощо [1, 3–5]. У даній роботі виявлені зв'язки між СТЕП та метеорологічними факторами (атмосферний тиск і вологість атмосферного повітря), а також розглядається принцип оптимуму як модель для описання виявлених зв'язків.

Об'єкт та методи досліджень. Вимірювання СТЕП відбувалося за допомогою приладу "Біо-1" [1]. СТЕП реєстрували біполярно в трьох біологічно-активних зонах (БАЗ) голови: лобові, носові, виличні; справа і зліва на обличчі [2]. Визначені таким чином градієнти перераховувалися за формулою:

$$S_i = \frac{\sum_{j=1}^N g_j}{N},$$

де g_i – градієнт потенціалу між поточною та i -тою зонами, при розташуванні умовного позитивного електроду в поточній зоні, N – кількість досліджених зон.

Дані метеорологічних умов на час експерименту були люб'язно надані метеорологічною станцією Канівського природного заповідника. В дослідженні приймали участь добровольці обох статей віком 18–22 р. із числа студентів біологічного факультету КНУ ім. Шевченка під час проходження практики в Канівському природному заповіднику в 2003 та 2004 н.рр. ($n=200$). Статистична обробка проводилась в середовищі Statistica 6.0 (StatSoft, USA).

Результати та їх обговорення. За факторним аналізом було виявлено: 1) асиметрії СТЕП (градієнт потенціалу між правою і лівою однойменними БАЗ) в лобних, носових та виличних БАЗ є самостійними параметрами (факторні навантаження 0,82–0,98); 2) градієнти між носовими і виличними БАЗ зліва і справа визначаються одним фактором (за попередніми дослідженнями, ведучу роль відіграє потенціал в носовій БАЗ); 3) градієнти СТЕП між лівими виличною та лобною БАЗ визначаються також одним фактором, на нашу думку – потенціалом у лобній БАЗ. Справа така закономірність не простежувалась.

Серед метеофакторів, які найбільш впливають на рівень СТЕП шкіри можна виділити найбільш вагомі, зміни яких проявляються в вірогідних змінах електричних потенціалів. Вплив вологості атмосферного повітря на людський організм в найбільшій мірі відображається на відносних значеннях СТЕП в лівих носовій і виличній БАЗ. Взаємозв'язки СТЕП лівої виличної БАЗ за даними обох років виявилися дуже подібними, що свідчить про досить стабільне відображення параметру вологості в цій БАЗ. Найбільш достовірні ($p<0,05$) відмінності спостерігаються при вологості 14–16 мБа д.н.п. Значення СТЕП в лівій виличній максимально позитивні (5–

6,8 мВ). При високій вологості повітря (до 14 мБа д.н.п.) значення СТЕП знаходяться на рівні 0–3 мВ. В носових БАЗ, на відміну від виличної БАЗ, за даними 2003 р., мінімальні розрахункові (–7 –5 мВ) значення СТЕП спостерігаються при вологості 14–18,5 мБа д.н.п., а максимальні (–2,8 – 0,5 мВ) – при максимальній вологості (> 19 мБа). За даними 2004 р для СТЕП в цій БАЗ спостерігається подібна залежність

Зміни атмосферного тиску також найкращим чином відображаються на розрахункових значеннях СТЕП в лівій виличній БАЗ (за даними обох років). При максимальному тиску (1001,3–1002,7) мБа СТЕП знаходяться на рівні –2,3–1,7 мВ (2003) і достовірно відрізняються ($p<0,05$) від СТЕП за нижчого тиску (2,4–7 мВ). За даними 2004 р, характер залежності СТЕП лівої виличної БАЗ подібний, а в правій виличній яка не проявляє зв'язків із вологістю, відрізняється від такого в 2003 р. Характерно, що тиск є найстабільнішим серед метеофакторів (відносно двох років), і можливо саме через це типи просторового розподілу СТЕП за цим параметром в носових БАЗ подібні. При збільшенні тиску понад 1005,6 мБа розрахункові величини СТЕП коливались від –5,2 до –3,2 мВ.

Графічні форми залежностей просторового розподілу СТЕП від погодних умов в більшості досліджених випадків підкоряються закону оптимуму. Наприклад, за певних значень вологості атмосферного повітря значення СТЕП не виходять за деякі межі. Однак при зменшенні чи збільшенні вологості, значення градієнтів СТЕП в лівій носовій і виличній БАЗ відхиляються в одну сторону (збільшення або зменшення потенціалу). Такі ж закономірності чітко прослідковуються і для температури зовнішнього середовища, де середніми значеннями СТЕП відповідають межі зони температурного комфорту людини. Це дозволяє виявляти зону комфорту для певної особи чи групи осіб. Можна припустити, що для СТЕП певних БАЗ притаманно набувати позитивних, а для інших – негативних значень, що в свою чергу залежить від локалізації БАЗ та морфофункціональних особливостей цієї ділянки шкіри.

Електричні потенціали на поверхні шкіри є динамічною системою, а їх дослідження має проводитися в напрямках вивчення механізмів генерування, так і вивчення закономірностей і зв'язків, які вони проявляють із іншими параметрами, що дасть можливість використовувати параметр СТЕП як діагностичний з більшою точністю і прогностичною здатністю. Систематизація цих знань дасть можливість встановити фізіологічну функцію електричних потенціалів поверхні шкіри і можливість їх застосування для подальших досліджень біології і медицини, визначення метеочутливості, кліматичної адаптації тощо.

Висновки. Тиск і вологість атмосферного повітря впливають на розрахункові значення СТЕП лівих носової і виличної БАЗ. СТЕП в цих БАЗ під впливом зовнішніх факторів змінюються за принципом оптимуму. Розрахункові значення СТЕП більш інформативні, ніж значення градієнтів.

1. Горго Ю.П. Психофізіологія: прикладні аспекти. — К.: Изд. МАУП, 1999. — 124 с. 2. Горлов Д.С., Горго Ю.П., Богданов В.Б. Модифікація алгоритму реєстрації статичних електричних потенціалів в біологічно-активних зонах // Інформаційна та негентропійна терапія, №1, 2003. 3. Зацепина Г.Н., Тульский С.В. Особенности пространственного распределения потенциала постоянного электрического поля человека в норме и патологии // Биофизика сложных систем. — 2004. — Т. 49. — № 1.

— С. 128–131. 4. Илюхина В.А., Ломарев М.П., Кожушко Н.Ю., Бажин Е.Ф. Пороговые критерии асимметрии омега-потенциала в оценке нарушений психических функций // Физиология человека, т. 20, № 1, 1994. 5. Илюхина В.А. Предпосылки и перспективы исследования физиологических аспектов проблемы энергодифицита при астенических состояниях здорового и больного человека // Физиология человека, Т. 21, № 1, 1995.

Надійшла до редколегії 28.02.07

УДК 577.115

О. Моргаєнко, асист., О. Дробінська, канд. біол. наук

АТФ-АЗНА АКТИВНІСТЬ АКТОМІОЗИНУ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ СТРЕСОВОЇ ВИРАЗКИ

Виявлено зростання АТФ-азної активності актоміозину гладеньких м'язів шлунка щурів при ульцерогенезі. Показані зміни вказують на посилення скоротливої активності гладеньких м'язів при шлунку стресовій моделі виразки. Зростання АТФ-азної активності актоміозину вказує на залучення актоміозинового комплексу в розвиток виразкового захворювання.

Increasing of ATP-ase activity of rat gastric smooth muscle actomyosin under stress ulcer was found. Obtained results demonstrate amplification of gastric smooth muscle contractility on condition of stress ulcer model. Increase of actomyosin ATP-ase activity indicates that actomyosin is involved in mechanisms of ulcer development.

Вступ. Виразкова хвороба шлунка – поліетіологічне хронічне рецидивуюче захворювання, що розвивається в результаті розладу нейрогуморальної регуляції. На сьогодні це одна з найпоширеніших патологій. Ще й досі механізми розвитку цього захворювання залишаються нез'ясованими остаточно.

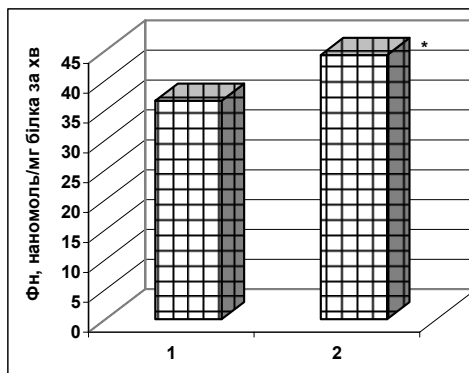
Порушення нейрогуморальних регуляторних механізмів при виразковому захворюванні має відображення на різних рівнях і системах організму. Встановлено, що на ранніх етапах ульцерогенезу (функціональна виразка) виявляються порушення моторики шлунка [1].

Скоротлива функція шлунка забезпечується шаром гладенької мускулатури, в основі скорочення якої лежить актин-міозинова взаємодія. Актomioзин, основний компонент скоротливого апарату, окрім структурної та скоротливої функції, забезпечує ферментативне Ca^{2+} -залежне Mg^{2+} – регульоване розщеплення АТФ, тобто володіє

АТФ-азною активністю, яка є його функціональним показником. Вивільнення АДФ як продукту АТФазної реакції є лімітуючою стадією актин-міозинової взаємодії [2].

Метою роботи було оцінити зміну АТФазної активності гладеньких м'язів шлунка щурів за умов розвитку стресової моделі виразки.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах масою 180-220 г, що утримувалися на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до води. Стресову виразку викликали за методикою С.Д. Гройсмана та Т.Г. Каревіної [3]. Виділення актоміозину здійснювали за модифікованим методом Соларо [4]. Визначення АТФ-азної активності актоміозину проводили за кількістю відщепленого неорганічного фосфату за методом Фіске-Суббароу. Активність Ca^{2+} , Mg^{2+} – АТФази визначали у середовищі з низькою іонною силою.



* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Рис. 1. Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазна активність контрольного актоміозину (1) та актоміозину з вражених шлунків (2)

Результати та обговорення. Ca^{2+} , Mg^{2+} - АТФазна активність є функціональною властивістю актоміозину, вона може слугувати показником, що відображає патологічні зміни у м'язовому органі. Порушення ферментативної активності в різних видах м'язової тканини (гладенькій, скелетній, серцевому м'язі) є відображенням патологічних процесів [5]. Раніше було показано, що за умов розвитку виразки шлунка та при інших патологіях відбуваються порушення у регуляції актин-міозинової взаємодії. До того ж, це може мати місце як у випадку Ca^{2+} -залежного механізму активації кінлази легкого ланцюга міозину, так і при Ca^{2+} -незалежному шляху, зокрема через інгібіторний вплив Rho-кінлази на фосфатазу легкого ланцюга міозину. Кінлаза і фосфатаза легкого ланцюга міозину регулюють фосфорилування-дефосфорилування міозину і відповідно активують скорочення і розслаблення гладеньких м'язів. Лише після фосфорилу-

вання міозину стає можливою взаємодія останнього з актином і, таким чином, здійснюється скорочення м'язу.

Визначення Ca^{2+} , Mg^{2+} - АТФазної активності актоміозину гладеньких м'язів шлунка щурів показало, що за умов розвитку стресової виразки відбувається зростання ферментативної активності актоміозину на 21% у порівнянні з контролем. Це може бути спричинено структурними перебудовами регуляторного ланцюга міозину при фосфорилуванні останнього кінлазою легких ланцюгів міозину, що є ключовим ферментом у регуляції актин-міозинової взаємодії гладеньких м'язів. А також може бути обумовлене зміною вмісту вторинних посередників передачі сигналу – внутрішньоклітинного Ca^{2+} і співвідношення циклічних нуклеотидів. Які, у свою чергу, окрім месенджерних функцій, у м'язових клітинах виконують функцію регулятора скорочення внаслідок активації відповідних ферментів, на-

самперед, протеїнази [6]. Зростання АТФ-азної активності актоміозину, що вказує на посилення скорочення гладеньких м'язів, можна розглядати як наслідок порушення нейрогуморальної регуляції моторики шлунка при розвитку виразкового захворювання.

Висновки. Отримані дані свідчать про те, що вже на ранніх етапах розвитку виразкової хвороби відбувається посилення активності скоротливої функції актоміозину. А отже, актоміозиновий комплекс залучений у процес розвитку виразкової хвороби шлунка. Таким чином, включаються механізми, спрямовані на посилення роботи скоротливого апарату і відповідно, моторної функції шлунка.

УДК 574.2;636.22/28.087.7.

1. Kang Y.M., Lamb K., Gebhart G.F., Bielefeldt K. // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. – 2005. – Vol. 288. – P. 284–291.
2. Левицкий Д.И. Актиниозинные системы биологической подвижности // Биохимия 2004. – т. 69. – вып. 11. – С. 1447–1462.
3. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс – Библ. указ. ВИНТИ. Деп. рукописи – 1979. – № 12. – 131 с.
4. Solaro R.J., Pang D.C., Briggs F.N. // Biochim. biophys. acta. – 1971. – Vol. 245. – P. 259–262.
5. Остапченко Л.И. Молекулярні механізми регуляції активності циклонуклеотид- та кальційзалежних протеїназ лімфоїдних клітин в умовах радіаційного впливу. КиївФітосоціоцентр, 1999.
6. Данилова В.М., Нарольська Н.А., Трегубов В.С., Федорова О.М., Мораєнко О.О., Зима В.Л. Фізико-хімічні і функціональні характеристики білків тропінового комплексу міокарда // Фізика живого. – 2001. – т. 9. – № 2. – с. 79–88.
7. Bielefeldt K and Conklin J.L. Intestinal motility during hypoxia and reoxygenation in vitro. Dig Dis Sci 42, 1997. – P. 878–884.

Надійшла до редколегії 20.02.07

Н. Кураченко, канд. хім. наук, В. Біденко, канд. с-г. наук, А. Давиденко, канд. біол. наук

ВИКОРИСТАННЯ СОЛЕЙ І КОМПЛЕКСОНАТІВ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У ГОДІВЛІ МОЛОЧНИХ КОРІВ ЗОНИ РАДІОАКТИВНОГО ЗАБРУДНЕННЯ

Робота присвячена вивченню впливу солей і комплексонатів мікроелементів на продуктивності та якості молока корів забруднення. Показано позитивний вплив мікроелементів Cu, Zn, Mn, Co на обмінні процеси, покращання яких призводять до збільшення надоїв молока та збільшення вмісту жиру та білка у ньому, тобто покращанню його якості.

This work is devoted to studying of the influence of salt and complexonates on the production and quality of cow milk in the zone of radio-active contamination. The article shows the positive influence of microelements on metabolism improving of which causes growth of milk yield and growth of content of fat and albumen (protein) in it. It means the improvement of its quality.

Вступ. Вивченню мікроелементів присвячена значна кількість робіт вчених В.І. Вернадського, О.П. Виноградова, В.В. Ковальського, В.А. Ковди, Ф.Я. Беренштейна та інших.

Ґрунти та живі організми містять майже всі елементи, що входять до Періодичної системи Д.І. Менделєєва. Щодо живих організмів, 47 хімічних елементів містяться в їх тканинах і клітинах постійно. Значну частину цих елементів, біля 30, становлять мікроелементи та ультрамікроелементи.

Хоча мікроелементи в живих організмах знаходяться в малих кількостях (від 10^{-3} до $10^{-5}\%$) біологічне і фізіологічне значення їх достатньо велике.

Експериментально доведено, що мікроелементи необхідні для перебігу важливих біохімічних процесів, нестача ж їх може призвести до сповільнення цих процесів або, навіть, і зупинки. Вони приймають активну участь у процесах росту, розвитку, розмноження, формуванні продуктивності, забезпечують процеси кровотворення та нормальний стан здоров'я. Білковий, вуглеводний, ліпідний обмін неможливі без участі Mo, Fe, V, Co, W, B, Mn, Zn.[1]

У живих організмах мікроелементи входять до складу ферментів, гормонів, вітамінів та інших життєво важливих сполук.

У різних тканинах одного і того ж організму кількість і співвідношення окремих мікроелементів неоднакове. Так, до складу крові ссавців входять 24 мікроелементи, частина з них концентрується у формених елементах (Cu, Zn, Mn), інша частина у плазмі (Co, Ti, Al). У мозку знаходиться 15 мікроелементів. Окремі органи і тканини можуть накопичувати певні мікроелементи: підшлункова залоза накопичує цинк, нікель; щитоподібна залоза – йод; біла речовина мозку – молібден [2].

Мікроелементи для кожного живого організму надзвичайно важливі. Особливу цінність для живих істот становлять Йод (I), Кобальт (Co), Купрум (Cu), Манган (Mn), Цинк (Zn). Без них неможливі процеси життєдіяльності.

Йод необхідний для синтезу гормонів щитоподібної залози. Близько 2/3 йоду крові перебуває у вигляді тироксину, ди – і трийодтиронінів, інша частина сполучена з білками, в основному з альбумінами. Багато йоду міститься у тканинах щитоподібної залози, печінки, шкіри, нирок, яєчників, лімфовузлів та кори великих півкуль. Обмін Йоду в організмі регулюється тире-

отропіном. Потреба в Йоді для молочних корів 0,1–0,8 мг на 1 кг сухого корму.

Життєво-необхідним для живих організмів є Кобальт. Він входить до складу металоензимів: трансфераз, дипептидаз, ізомераз; є активатором багатьох ферментів, таких як лужна фосфатаза, піруваткарбоксилаза, рибіофлавінази; є складовою частиною вітаміну В₁₂. Кобальт відіграє важливу роль у процесах кровотворення, у синтезі нуклеїнових кислот та деяких білків. У молоці корови вміст Кобальту становить 8–18 мг на 1 кг продукту.

Купрум входить до складу всіх тканин як рослин так і тварин, хоча концентрація цього мікроелемента у всіх тканинах різна. Купрум входить до складу ферментів: цитохромоксидази, тирозинази, аскорбінооксидази, альдолази, тощо, які відіграють важливу роль в окисно-відновних процесах. Однією з найважливіших функцій Купруму є його участь у процесах кровотворення. Крім того, Купрум приймає активну участь у синтезі гемоглобіну, еластину, ферментів пероксидази та каталази, сприяє дії гормону наднирників – адреналіну.

Потреба тварин у Купрумі становить 8–10 мг/кг сухого корму.

Манган – мікроелемент, який в основному депонується у печінці, його концентрація сягає 0,17%. Манган бере активну участь в окисно-відновних реакціях, тканинному диханні, впливає на функцію ендокринних залоз, ріст, кровотворення, розмноження. Він є складовою частиною деяких металоензимів, активатором багатьох ферментів, а саме тіамінази, аргінази, дезоксирибонуклеази, енолази та ряду інших. Цей мікроелемент підвищує утилізацію жирів в організмі і протидіє жировій дегенерації печінки, бере участь в активації циклу трикарбонових кислот. Манган стимулює дію гормонів передньої частки гіпофіза, андрогенів, інсуліну. Високі концентрації Мангану викликають зміни з боку нервової діяльності, посилюють накопичення фосфору у кістках, зменшуючи його виведення із сечею. Крім цього, знижується активність ферментів холінестерази і церулоплазміну крові. Потреба Мангану становить 40–60 мг/кг сухого корму на добу [4].

Цинк, як і інші мікроелементи, міститься у всіх тканинах, але у значно більшій кількості. Цинк, як структурний компонент входить до ряду ферментів: альдолази,

карбоксиполіпептидази, лактатдегідрогенази, карбоангідрази, уреазі. Цинк підвищує активність деяких ферментів – фосфатази, амілази, енолази тощо. Цей мікроелемент приймає участь у формуванні четвертинної структури гормонів білкової природи – інсуліну і глюкагону, крім того здатний у шість разів продовжувати дію інсуліну. Цинк бере участь у підтриманні певної конфігурації РНК і таким чином впливає на біосинтез білків. Цинк впливає на ріст, розвиток, утворення кісток, репродуктивну функцію організму, сприяє обміну нуклеїнових кислот, білків, вуглеводів, ліпідів та мінеральних речовин. В організмі обмін Цинку регулюється щитоподібною залозою. Добова потреба Цинку для тварин становить 40–50 мг/кг сухого корму.

Об'єкт та методи дослідження. Для проведення експерименту у господарстві СТОВ "Полісся" Народицького району Житомирської області було відібрано 15 голів корів, сформованих у три групи методом пар-аналогів, по 5 голів у кожній. Тварини 1-ї контрольної групи отримували основний господарський раціон, до складу якого увійшли корми, трава пасовищна та концентровані корми, зерно ячменю. Коровам 2-ї дослідної групи крім основного раціону згодовували солі мікроелементів Кобальту, Цинку, Купруму, Мангану у кількостях, вміст яких у перерахунку на чисті елементи відповідав нормі. Для підгодівлі тварин 2-ї контрольної групи використовували солі: Кобальт хлорид, Купрум (II) сульфат, Цинк сульфат, Манган (II) сульфат. У раціони корів 3-ї групи вводили комплексонати названих мікроелементів у кількостях, що відповідали нормі, у перерахунку на чистий елемент.

Продуктивність дослідних корів вивчали шляхом проведення контрольних удоїв. Молоко на аналіз, вмісту жиру і білка відбирали у період проведення контрольних удоїв. Відбір проб проводили вранці, в обід, увечері, пропорційно від удою.

Дані молочної продуктивності дослідних корів представлені у таблиці.

Результати та їх обговорення. Із таблиці видно, що на початку досліду надої молока корів практично не відрізнялися і складали 8,9 кг у тварин 1-ї контрольної групи, 9,1 кг – у корів 2-ї контрольної групи та 8,9 кг – у тварин 3-ї дослідної групи. На другому місяці досліду у корів 2-ї та 3-ї груп відмічався незначний спад молочної продуктивності, при цьому надої молока корів знизилися на 9 і 12% відповідно. На третьому місяці досліджень збільшення надоїв молока корів відмічалось у 2-й групі, у раціони яких вводили солі мікроелементів Кобальту, Купруму, Мангану, Цинку. Відмічалася тенденція збільшення надою і у тварин 3-ї групи, який практично рівнявся даним контрольної групи. На 4-му та 5-му місяці досліджень надоїв корів 2-ї групи були більшими, ніж у контролі на 62% і 31%, відповідно. Подібна картина збільшення надою молока відмічалася і у корів 3-ї групи, на 41% на 4-му місяці досліджень і на 36% – на 5-му місяці досліджень. Отримані дані збільшення надою молока корів 2-ї та 3-ї груп були не достовірними, але тенденція збільшення молока свідчить про позитивний вплив солей і комплексонатів мікроелементів на покращення обміну речовин в організмі корів.

Таблиця. Молочна продуктивність корів за період досліджень

Показники	Групи корів	Місяці досліду				
		1	2	3	4	5
Валовий надій, кг	1	277,1±11	356,4±35	186,8±15	80,6±16,4	55,0±18
	2	280,9±17	322,8±11	234,0±16	130,2±12	72,0±26
	3	277,1±24	313,2±15	185,2±29	113,7±33	75,0±39
Середньо-добовий надій, кг	1	8,9±0,4	11,8±1,2	6,0±0,5	2,6±0,5	1,8±0,6
	2	9,1±0,6	10,8±0,4	7,6±0,5	4,2±0,4	2,4±0,8
	3	8,9±0,8	10,4±0,5	5,9±0,9	3,8±1,0	2,5±1,3
Відсотки	1	100	100	100	100	100
	2	101	91	125	162	131
	3	100	88	99	141	136
Вміст жиру у молоці, %	1	3,73±0,26	3,53±0,09	3,66±0,36	3,58±0,224,01±0,12	4,01±0,06
	2	3,50±0,38	3,80±0,06	4,27±0,07	12	4,20±0,06
	3	3,37±0,20	3,53±0,03	4,07±0,19	4,21±0,06	4,40±0,05
Вміст білка у Молоці, %	1	3,34±0,05	3,20±0,06	3,13±0,03	3,16±0,10	3,40±0,06
	2	3,46±0,07	3,40±0,1*	3,20±0,06	3,49±0,13	3,51±0,20
	3	3,42±0,02	3,31±0,03	3,21±0,03	3,67±0,12	3,53±0,15

* – достовірність різниці по відношенню до 1-ї контрольної групи, $P < 0,05$

Спостерігалось також збільшення вмісту у молоці дослідних корів білка, вагомих складових компонентів, які характеризують якість молока корів. У молоці 1-ї, 2-ї, 3-ї груп на початку досліду вміст жиру становив 3,73, 3,50 та 3,37%, відповідно. Більший вміст жиру був у молоці тварин 1-ї групи – 3,73%, найменший у корів 3-ї групи – 3,37%. На 3-му, 4-му, 5-му місяцях досліджень спостерігалось збільшення вмісту жиру у молоці корів 2-ї та 3-ї груп, вміст жиру у молоці тварин 1-ї групи був меншим. Практично такий же результат був отриманий і по вмісту білка у молоці корів дослідних груп.

Висновки. Таким чином, введення солей та комплексонатів мікроелементів Кобальту, Купруму, Цинку, Ман-

гану у раціони дійних корів сприяло підвищенню їх надоїв та покращенню якості молока за рахунок збільшення у ньому вмісту жиру та білка.

1. Орлов Д.С. Микроэлементы в почвах и живых организмах, Соровский образовательный журнал, №1, 1998. – С. 61–68.
2. Четкин А.В. Биохимия животных. – М.: Высшая наука, 1982. – С. 421–426.
3. Кононский О.І. Біохімія тварин. – К.: Вища школа, 2006. – С. 193–200.
4. Явоненко О.Ф., Яковенко В.В. Біохімія. – Суми: "Університетська книга", 2002. – С. 238–241.
5. Дідух М.І., Біденко В.М., Чала І.В. Ефективність збагачення раціонів дійних корів мікроелементами в умовах радіоактивного забруднення // Перша Всеукраїнська міжнародна конференція по проблемі "Корми і кормовий білок" Тез.доп. – Вінниця, 1994. – С. 348–349.

Надійшла до редколегії 20.02.07

Наукове видання



ВІСНИК КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

БІОЛОГІЯ

Випуски 49-50

Друкується за аворською редакцією

Оригінал-макет виготовлено Видавничо-поліграфічним центром "Київський університет"

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, економіко-статистичних даних, власних імен та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали. Рукописи та дискети не повертаються.

Засновник та видавець – Київський національний університет імені Тараса Шевченка. Свідоцтво Міністерства інформації України про державну реєстрацію засобів масової інформації КІ № 251 від 31.10.97. Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", директор Г.Л. Новікова. Адреса ВПЦ: 01601, Київ, б-р Тараса Шевченка, 14, кімн. 43. ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28



Підписано до друку 09.04.08. Формат 60x84^{1/8}. Вид. № 165. Гарнітура Arial. Папір офсетний.
Друк офсетний. Наклад 500. Ум. друк. арк. 20,0. Зам. № 27-4022.

Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет"
01601, Київ, б-р Т. Шевченка, 14, кімн. 43
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; (38044) 239 31 58; факс (38044) 239 31 28
E-mail: vydav_polygraph@univ.kiev.ua
WWW: <http://vpc.univ.kiev.ua>